

Die Transplantatreaktion
nach experimenteller Verbrühung
und Behandlung mit
Antilymphozytenserum, Aldosteron
und Prednisolon

Antje Struckmeyer

1973

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DEM INSTITUT FÜR CHIRURGISCHE FORSCHUNG
(Vorstand: Professor Dr. Dr. h.c. W. Brendel)
AN DER CHIRURGISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
(Direktor: Professor Dr. G. Heberer)

DIE TRANSPLANTATREAKTION
NACH EXPERIMENTELLER VERBRÜHUNG UND BEHANDLUNG MIT
ANTILYMPHOZYTENSERUM, ALDOSTERON UND PREDNISOLON

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Antje Struckmeyer

München 1973



Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität
München

Referent	: Professor Dr.Dr. W. Brendel
Coreferent	: Professor Dr.Dr. H. Pichlmaier
Dekan	: Professor Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 7.10.1975	

GLIEDERUNG

A. EINLEITUNG	1
B. MATERIAL UND METHODEN	3
1. Tiere	3
2. Methode	3
2.1. Versuchsablauf	4
3. <u>Transplantationsversuche</u>	4
3.1. Transplantation	4
3.2. Herstellung des ALS	5
3.3. Immunsuppression	6
4. <u>Autoimmunologische Untersuchungen</u>	9
4.1. Herstellung der Hautextrakte	9
4.2. Herstellung der Immunseren	9
4.3. Absorption der Seren	10
4.4. Agar-Gel Diffusionsteste	12
5. <u>Serum-Übertragungsversuche</u>	12
5.1. Verbrühung (30 ‰)	12
5.2. Präparation der Seren	13
5.3. Versuchsablauf	14
C. STATISTIK	14
D. ERGEBNISSE	15
1. Transplantatüberlebenszeiten	15
2. Mortalität	23
3. Autoimmunologische Untersuchungen	25
4. Transplantatüberlebenszeiten nach Serumübertragung	25
4.1. Wiederholung der Versuche	27

E. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	28
1. Transplantation	29
2. Transplantatreaktion nach Verbrühung	30
2.1. Gemeinsame Transplantationsantigene	30
2.2. Antigener Wettbewerb	31
2.3. Erhöhte Sekretion von Corticosteroiden	37
2.4. Immunparalyse	43
3. Enhancement-Faktoren	44
4. Transplantatreaktion am 10. Tag nach Verbrühung	46
5. Die Mortalität als Parameter für die toxischen Nebenwirkungen der Immunsuppression	48
6. Die Verbrennungskrankheit - Ein Autoimmunprozess?	51
F. ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUß	53
G. LITERATURVERZEICHNIS	56
LEBENS LAUF	75

A. EINLEITUNG

Die Deckung von Hautdefekten bei ausgedehnten Verbrennungen mit allogenem oder xenogenem Spendermaterial wirft im Zusammenhang mit der Verbrennungskrankheit besondere Probleme auf.

Auf Grund zahlreicher tierexperimenteller Befunde sowie der klinischen Erfahrung ist anzunehmen, daß sich der Schwerverbrannte vorübergehend in einem Zustand reduzierter immunologischer Reaktionsbereitschaft befindet, deren Ausmaß und Dauer im Wesentlichen vom Umfang des Traumas bestimmt wird. Die Verminderung der Immunantwort betrifft dabei vorwiegend die Reaktion vom verzögerten (zellulären) Typ, wie tierexperimentell (118) und am Menschen (23) anhand der Abschwächung der Tuberkulinreaktion und durch die Verlängerung der Überlebenszeit allogener Hauttransplantate nachgewiesen werden konnte (26, 27, 118, 119).

Die Hauttransplantation zur Deckung von drittgradigen Verbrennungen erfordert bei Verbrennungen über 30 % der Körperoberfläche außer Autotransplantation auch die Verwendung von allogenem oder xenogenem Hautmaterial zur vorübergehenden Deckung, da meist nicht genug eigene Haut zur vollständigen Autotransplantation zur Verfügung steht. Die möglichst frühzeitige Deckung mit Haut ist die einzige Möglichkeit, dem Eiweiß-, Flüssigkeits- und Elektrolytverlust nach Verbrennung wirkungsvoll zu begegnen und die Gefahr der Sepsis zu verringern.

Das Problem bei Deckung großer Wundflächen mit Fremdhaut ist die Transplantatreaktion, wobei nach wiederholter Deckung mit Haut des gleichen Spenders mit dem "second set"-Phänomen gerechnet werden muß, d.h., die Überlebenszeit der nachfolgenden Transplantate wird immer kürzer.

Es ergibt sich daher die Frage, ob ein Verbrannter, der mit allogenem oder xenogenem Hautmaterial versorgt werden soll, trotz verminderter immunologischer Reaktionslage immunsuppres-

siv behandelt werden sollte.

Bei Anwendung konventioneller Immunsuppressiva (z.B. Glukokortikosteroide, Azathioprin) besteht eine erhöhte Infektionsgefahr. Deshalb sollten bei Fremdhauttransplantationen nur solche immunsuppressiven Methoden angewendet werden, welche bevorzugt die Transplantatreaktionen und weniger die Infektabwehr schwächen.

Aus diesem Grund wurde in unseren Versuchen das Antilymphozytenserum, von dem bekannt ist, daß es mehr die zellulären und weniger die humoralen Immunreaktionen unterdrückt, und weiterhin das Mineralkortikoid Aldosteron untersucht, dessen immunsuppressive Eigenschaften experimentell von TODD (139) und BAETHMANN (11) nachgewiesen wurden.

Von Aldosteron ist eine stärkere Herabsetzung der Infektionsresistenz nicht bekannt. Ziel unserer Untersuchungen war es erstens, im experimentellen Modell der allogenen Hautübertragung bei nicht letal verbrühten Tieren herauszufinden, ob eine immunsuppressive Behandlung mit ALS oder Aldosteron oder beiden gegebenenfalls die Behandlung mit dem Glukokortikoid Prednisolon ersetzen kann; zweitens, ob eine immunsuppressive Behandlung mit ALS angesichts der verminderten zellulären Immunität des Verbrühten überhaupt vertretbar ist.

Als Kriterium der immunsuppressiven Wirkung diente die Verlängerung der Hauttransplantatüberlebenszeit, während die Überlebensrate der Tiere in den verschiedenen Kollektiven als Parameter toxischer Nebenwirkungen der Immunsuppressiva angesehen wurde.

B. MATERIAL und METHODEN

B.1. TIERE:

Die Versuche wurden an männlichen Sprague-Dawley Ratten (Tierzucht Hagemann, Lemgo) mit einem Gewicht zwischen 200 - 240 g durchgeführt. Während der Dauer des Versuches wurden die Tiere in Einzelkäfigen bei 22 °C Raumtemperatur gehalten. Die Nahrung bestand aus Altromin^R-Trockenfutter und Wasser ad libitum.

B.2. VERBRÜHUNG:

Zur Erzielung einer standardisierten Verbrühung führten wir die von ARTURSON (9) und SCHILDT (128) angegebene Methode durch (Abb. 1).

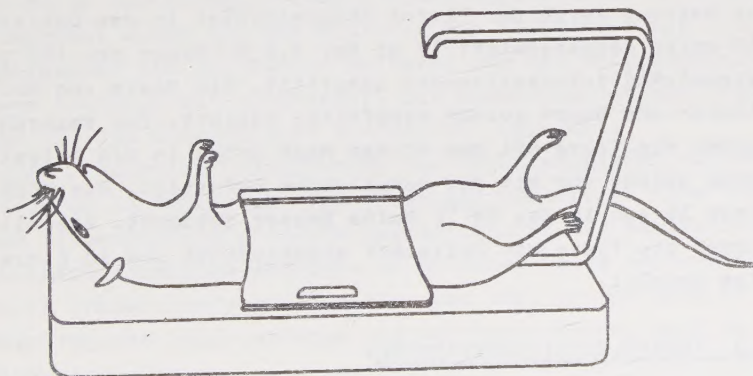


Abb. 1: Schematische Darstellung des Verbrühungsgerätes.

Das Versuchstier wird in eine enganliegende Wanne gebracht, die den Rücken des Tieres zur Verbrühung mit heißem Wasser

frei läßt. Die Wanne wurde folgendermaßen hergestellt: Eine tote Ratte wurde in Kyphose-Haltung in einer rechteckigen Form fixiert. Von dieser Form wurde ein Ausgußmodell aus Wachs angefertigt, das den Rücken des Tieres frei ließ. Diese Fläche stellte das Areal dar, das verbrüht werden sollte. Für unsere Versuche wurde eine Öffnung gewählt, die ca. 15 % der Körperoberfläche einer durchschnittlich 220 g schweren Ratte zur Verbrühung frei ließ.

Nach dem Wachsmo-
dell wurde eine Kunststoffform aus nicht wärmeleitendem Polystyrol gegossen. Eine Gummilasche diente dazu, das Tier in seiner Lage zu fixieren. Die Tiere wurden mit 90 °C heißem Wasser in einem thermostatisch aufgeheizten Wasserbad verbrüht.

B.2.1. VERSUCHSABLAUF:

Vor Versuchsbeginn wurden alle Tiere mit 10 ml einer 0,45 % NaCl-Lösung belastet. Die Lösung wurde peroral mit einer Magensonde gegeben. Damit sollte dem Wasserverlust in die verbrühte Haut vorgebeugt werden.

Zur Narkose wurde den Tieren Chloralhydrat in der Dosierung 360 mg/kg Körpergewicht (1 ml der 3,6 % Lösung pro 100 g Körpergewicht) intraperitoneal gespritzt. Die Haare von Rücken, Flanken und Bauch wurden sorgfältig rasiert. Zur Verbrühung wurden die Tiere mit dem Rücken nach unten in die Polystyrolwanne gelegt und mit der Gummilasche befestigt. Der Rücken wurde 30 sec in das 90 °C heiße Wasser getaucht. Anschließend wurden die Tiere mit Zellstoff abgetrocknet und in Einzelkäfige gesetzt.

B.3. TRANSPLANTATIONSVERSUCHE:

B.3.1. TRANSPLANTATION:

Die Tiere der Kollektive G-M wurden am 1. Tag, die der Kollektive N-S am 10. Tag nach der Verbrühung transplantiert (siehe Tabelle 2,3). Die Transplantation wurde nach der in unserem Institut üblichen Technik durchgeführt. Als Spenderratten dien-

ten ausgewachsene männliche Tiere eines schwarzen, ingezüchteten BD-6 Stammes.

Vor Versuchsbeginn erhielten sie Chloralhydrat (360 mg/kg) intraperitoneal injiziert. Rücken und Seiten wurden rasiert, mit Pilca^R vollständig enthaart und mit Alkohol desinfiziert. Die Haut wurde mit einer Transplantationszange entnommen, mit der runde Hautläppchen mit einem Durchmesser von 1,5 cm ausgestanzt werden konnten. Die Hautläppchen wurden sorgfältig vom Unterhautfettgewebe befreit und zur weiteren Verwendung zwischen sterilen, mit 0,9 % NaCl-Lösung getränkten Mullläppchen aufbewahrt.

Die Empfängerratten wurden in Äthernarkose ebenfalls enthaart und die Haut desinfiziert.

Die allogene Haut wurde sowohl in gesunde als auch in verbrühte Hautareale übertragen. Im gesunden Hautareal wurden zwei Hautläppchen ausgestanzt. Das erste diente als Kontrolle und wurde, nachdem das Unterhautfettgewebe entfernt worden war, wieder eingesetzt. Das zweite wurde verworfen. An dieser Stelle wurde das allogene Transplantat implantiert. Im verbrühten Hautareal wurde mit dem Skalpell ein Stück Haut mit Unterhautfettgewebe bis zur Faszie entfernt und das entsprechende allogene Transplantat eingesetzt. Die Wundränder wurden adaptiert und mit dem Gewebekleber Histoacryl^R verklebt.

Durch kreuzweise Bandagierung der Schultergelenke wurden die Tiere am Zerstören der Transplantate gehindert. Eine Abdeckung der Transplantate erfolgte deshalb nicht. Die Beurteilung der Abstoßungsreaktion erfolgte in üblicher Weise makroskopisch durch Inspektion und Palpation. Der Tag, an dem über 90 % der übertragenen Haut verfärbt und verhärtet waren, galt als Abstoßungstermin.

B.3.2. HERSTELLUNG DES ANTILYMPHOZYTENSERUMS:

Thymus und Mesenteriallymphknoten von männlichen Lewis-Ratten (Tierzucht Bäumler, Wolfraatshausen) wurden zerkleinert, durch ein Sieb gerieben und in Hank'scher Lösung suspendiert. Die Lösung wurde im Potter-Elvehjem homogenisiert und 15 min bei

150 g zentrifugiert. Das Zellsediment wurde danach zweimal in Hank'scher Lösung gewaschen und zur Injektion in diese Lösung resuspendiert.

Zur Produktion der Serum wurden in Rudel gehaltene Kaninchen einer kleinwüchsigen Mischrasse verwendet. Die Immunisierung der Kaninchen erfolgte durch zweimalige i.p.-Injektion von 2×10^6 Zellen im Abstand von 14 Tagen. Sieben Tage nach der letzten Boosterung wurden sie durch Punktion der A. carotis com. entblutet. Das Serum wurde abzentrifugiert und bei 20°C gelagert.

Serologische Tests:

Die in vitro-Eigenschaften des ALS wurden anhand von Titerbestimmungen agglutinierender Antikörper gegen Erythrozyten und cytotoxischer Antikörper gegen Lymphozyten der Ratte getestet. Der Hämagglutinationstiter betrug 1:256, nach einmaliger Absorption mit Rattenerythrozyten 1:64. Der cytotoxische Titer betrug 1:256, nach einmaliger Absorption mit Ratten-Erythrozyten 1:128. Die immunsuppressive Wirksamkeit dieses ALS wurde anhand der Überlebenszeit von allogenen Hauttransplantaten getestet. Sie betrug $20,7 \pm 1,4$ Tage ($\bar{x} \pm s\bar{x}$). Die Überlebenszeit der Transplantate des Kontrollkollektivs (Normakaninien-Serum) betrug $10,6 \pm 0,3$ Tage.

ALLG. IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPIE (Tab. 1, 2, 3)

Die Steroidbehandlung wurde kontinuierlich durchgeführt. Das Glukokortikoid Prednisolon wurde den Tieren von Kollektiv C, F, J, M, P, S in der Dosierung von 2×2 mg/kg täglich subkutan gegeben.

Die Tiere von Kollektiv B, E, H, L, O, R erhielten täglich 2×1 mg/kg Aldosteron subkutan.

Antilymphozytenserum (Kollektiv D, E, F, K, L, M, Q, R, S) wurde am 1., 3. und 5. Tag nach der Transplantation in der Menge von 4 ml/kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert.

Außerdem wurde ALS mit den verschiedenen Steroiden kombiniert. Entsprechend wurde den Tieren von Kollektiv E, L und R täglich Aldosteron in der angegebenen Dosierung gespritzt, während das Antilymphozytenserum nur am 1., 3. und 5. Tag nach

Transplantation appliziert wurde. Kollektiv F, M und S erhielten täglich 2 x 2 mg/kg Prednisolon s.c. und am 1., 3. und 5. Tag nach Transplantation 4 ml/kg ALS i.p.

Zur Kontrolle der ALS-Wirkung erhielt das Kollektiv D₁ und K₁ normales Kaninchenserum in der gleichen Dosierung wie ALS (4 ml/kg, Tg. +1, +3, +5).

Tab. 1: Überlebenszeit der Transplantate bei intakten Tieren unter Behandlung mit Aldosteron, Prednisolon und ALS.

Behandlung	Dosierung	mÜZ ± SAM	n
A Kontrolle	0	10,4 ± 0,2	14
B Aldosteron	2x1mg/kg die	13,2 ± 0,8	10
C Prednisolon	2x2mg/kg die	15,3 ± 0,7	10
D ALS	4ml/kg; Tag:+1,+3,+5	20,7 ± 1,4	9
E ALS + Aldosteron	4ml/kg; Tag:+1,+3,+5 2x1mg/kg die	23,2 ± 2,1	10
F ALS + Prednisolon	4ml/kg; Tag:+1,+3,+5 2x2mg/kg die	32,0 ± 0,7	10
D ₁ NKS	4ml/kg; Tag:+1,+2,+3	10,6 ± 0,3	5

mÜZ = Mittlere Überlebenszeit (Tage)

SAM = Standardabweichung des Mittelwerts

NKS = Normalkaninchenserum

Tab. 2: Überlebenszeit der Transplantate bei verbrühten Tieren unter Behandlung mit Aldosteron, Prednisolon und ALS. Transplantation am 1. Tag nach Verbrühung.

Behandlung	Dosierung	MÜZ $\pm$ SAM	n
G Kontrolle	0	17,6 $\pm$ 1,9	10
H Aldosteron	2x1mg/kg die	19,4 $\pm$ 1,5	10
J Prednisolon	2x2mg/kg die	16,2 $\pm$ 1,2	9
K ALS	4ml/kg; Tag: +1, +3, +5	29,0 $\pm$ 3,0	14
L ALS + Aldosteron	4ml/kg; Tag: +1, +3, +5 2x1mg/kg die	18,8 $\pm$ 1,1 (1 Tier tolerant)	16
M ALS + Prednisolon	4ml/kg; Tag: +1, +3, +5 2x2mg/kg die	30,7 $\pm$ 2,3	10
K ₁ NKS	4ml/kg; Tag: +1, +3, +5	16,5 $\pm$ 1,3	6

Tab. 3: Überlebenszeit der Transplantate bei verbrühten Tieren unter Behandlung mit Aldosteron, Prednisolon und ALS. Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung.

Behandlung	Dosierung	MÜZ $\pm$ SAM	n
N Kontrolle	0	12,5 $\pm$ 1,1	10
O Aldosteron	2x1mg/kg die	13,8 $\pm$ 1,1	10
P Prednisolon	2x2mg/kg die	13,6 $\pm$ 1,5	9
Q ALS	4ml/kg; Tag: +1, +3, +5	26,4 $\pm$ 3,1 (1 Tier tolerant)	7
R ALS + Aldosteron	4ml/kg; Tag: +1, +3, +5 2x1mg/kg die	23,3 $\pm$ 2,6	8
S ALS + Prednisolon	4ml/kg; Tag: +1, +3, +5 2x2mg/kg die	26,1 $\pm$ 2,4	9

MÜZ = Mittlere Überlebenszeit (Tage)

SAM = Standardabweichung des Mittelwerts

NKS = Normalkaninchenserum

B.4. VERSUCHE ZUM NACHWEIS VON VERBRENNUNGSSPEZIFISCHEN ANTI-KÖRPERN

Prinzip:

Der Nachweis von verbrennungsspezifischen Antikörpern basiert auf der Annahme, daß die Antigenizität der Haut durch Verbrennung verändert wird. Immunisiert man z.B. Kaninchen mit gesunder oder verbrannter Haut, bilden sie - wenn die Voraussetzung zutrifft - verschiedene Antikörper gegen gesunde und verbrannte Haut. Durch Absorption der gewonnenen Immunsereen mit gesunder Haut lassen sich "normale" Antikörper gegen Haut eliminieren. Spezifisch gegen verbrannte Haut gerichtete Antikörper werden durch Absorption mit gesunder Haut nicht eliminiert und lassen sich z.B. in einem Agar-Gei-Diffusionstest gegen verbrannte Haut darstellen.

B.4.1. HERSTELLUNG DER HAUTEXTRAKTE:

Die Hautextrakte wurden aus gesunder und verbrühter Rattenhaut hergestellt (Stamm Sprague-Dawley). Die verbrühte Rattenhaut wurde am 7. Tag nach der Verbrühung steril entnommen. Die Subkutis wurde entfernt und das Corium nach Zerkleinerung in einer Verdünnung von 1:10 bei 0 °C homogenisiert.

Das Homogenat von gesunder Haut wurde auf die gleiche Weise hergestellt.

Beide Extrakte wurden nach Abnahme eines bakteriologischen Abstriches bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C aufbewahrt.

B.4.2. HERSTELLUNG DER IMMUNSEREN:

Vier erwachsene Kaninchen wurden vier Wochen lang immunisiert. Jeweils zwei Tieren wurde zwei Mal pro Woche 10 ml Hautextrakt aus gesunder bzw. verbrühter Rattenhaut intraperitoneal injiziert (s. Schema Abb. 2). Sieben Tage nach der letzten Boostung wurden sie aus der A. carotis entblutet. Das Serum wurde abzentrifugiert, gepoolt und bei -20 °C aufbewahrt.

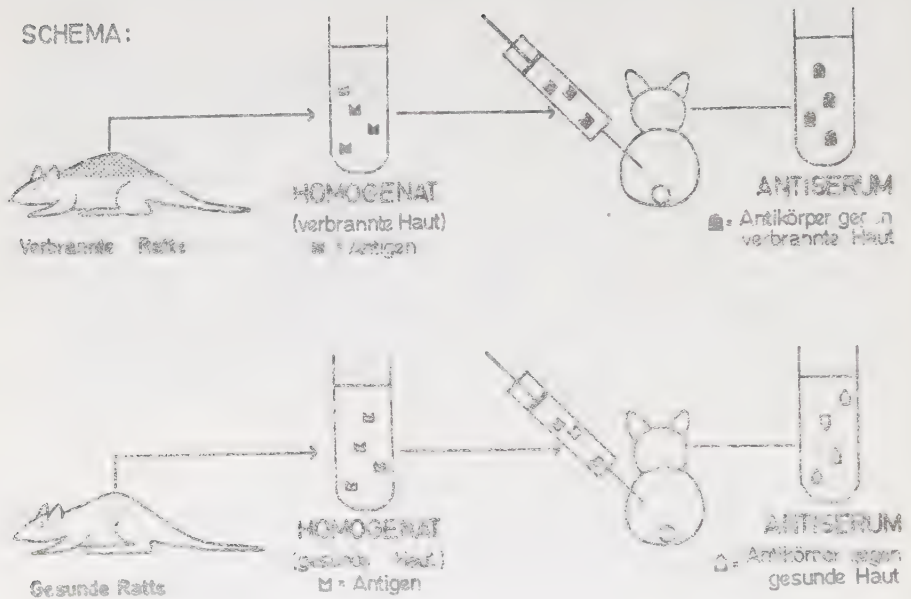


Abb. 2: Gewinnung der Immunsere.

Kaninchen wurden mit Homogenat aus gesunder und verbrühter Rattenhaut 4 Wochen lang immunisiert. Sieben Tage nach der letzten Boosterung wurden sie entblutet und das Serum abzentrifugiert.

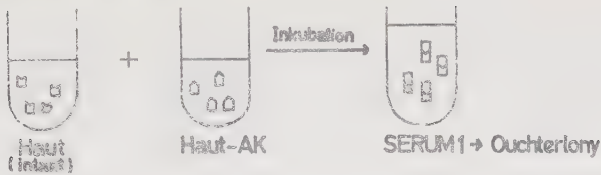
8.4.3. ABSORPTION DER IMMUNSEREN:

8.4.3.1. 1 ml Kaninchen-Immunsere, durch Immunisierung mit gesunder Rattenhaut gewonnen, wurde mit 1 ml Homogenat von gesunder Rattenhaut 12 Stunden bei 37 °C im Schüttelbad inkubiert. Das Serum (Absorbiertes Serum 1) wurde nach Inkubation abzentrifugiert und bei 20 °C aufbewahrt (s. Schema Abb. 3).

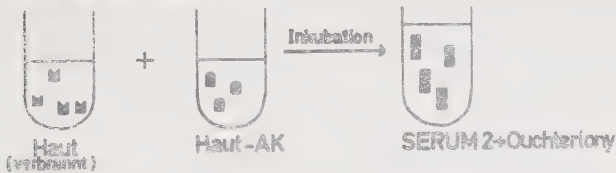
8.4.3.2. 1 ml Kaninchen-Immunsere, gewonnen durch Immunisierung mit verbrühter Rattenhaut, wurde mit 1 ml Homogenat von verbrühter Rattenhaut 12 Stunden bei

Vorgang der Serumabsorption:

Absorbiertes Serum 1:



Absorbiertes Serum 2:



Absorbiertes Serum 3:

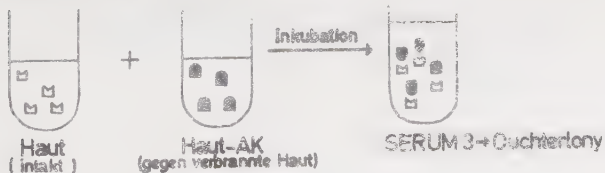


Abb. 3: Vorgang der Serumabsorption.

Homogenat von intakter Haut wird mit Immuns serum gegen intakte Haut 12 Stunden im Schüttelbad inkubiert. Das Serum wird abzentrifugiert = absorbiertes Serum 1. Homogenat von verbrühter Haut wird mit Immuns serum gegen verbrühte Haut 12 Stunden im Schüttelbad inkubiert. Das Serum wird abzentrifugiert = absorbiertes Serum 2. Homogenat von intakter Haut wird mit Immuns serum gegen verbrühte Haut 12 Stunden im Schüttelbad inkubiert. Das Serum wird abzentrifugiert = absorbiertes Serum 3. Mit allen drei Seren wurde ein Agar-Gel-Diffusionstest (OUCHTERLONY) gegen Homogenat von gesunder und verbrühter Haut durchgeführt.

37 °C im Schüttelbad inkubiert (absorbiertes Serum 2).

B.4.3.3. 1 ml Immuns serum gegen verbrühte Rattenhaut wurde mit 1 ml Homogenat von gesunder Rattenhaut 12 Stunden bei 37 °C im Schüttelbad inkubiert (absorbiertes Serum 3).

B.4.4. AGAR-GEL-DIFFUSIONSTESTE:

Mit jedem der drei absorbierten Seren wurde ein Agar-Gel-Diffusionstest nach DUCHTERLONY (103) durchgeführt. Die Agar-Gel-Platten befanden sich in einer feuchten Kammer. Das Serum wurde jeweils in das mittlere Reservoir eingefüllt; das Homogenat von gesunder Haut in die unteren und das Homogenat von verbrühter Haut in die oberen Reservoirs (s. Abb. 9). Die Reservoirs wurden mit 0,05 cm³ Serum bzw. Haut-Homogenat aufgefüllt und innerhalb von 24 Stunden zweimal nachgefüllt. Das Ergebnis wurde innerhalb von 72 Stunden abgelesen.

B.5. SERUM-ÜBERTRAGUNGSVERSUCHE:

Um die Wirkung von Serum verbrühter Ratten auf die Transplantatüberlebenszeit zu testen, wurde das Serum verbrühter Ratten auf nicht verbrühte, transplantierte Ratten übertragen (s. Abb. 4). Die Verbrühung betrug für diese Versuche 30 % der Körperoberfläche.

B.5.1. VERBRÜHUNG:

Bei 40 Tieren (Stamm: Sprague-Dawley) wurde nach der von McCARTHY (99) angegebenen Methode 30 % der Körperoberfläche verbrüht. Die Fläche wird hierbei vor der Verbrühung auf dem Rücken der Tiere aufgetragen, wobei man sich an anatomischen Markierungen (Halswirbel, Schwanzwurzel, Verbindungslinie zwischen Schultergelenk und Trochanter major) orientiert. Vorbereitung und Narkose erfolgte wie üblich (B.2.1.). Die Größe der Fläche wurde planimetrisch kontrolliert. Die Verbrühung wurde 30 sec mit 90 °C heißem Wasser durchgeführt.

SCHEMA:

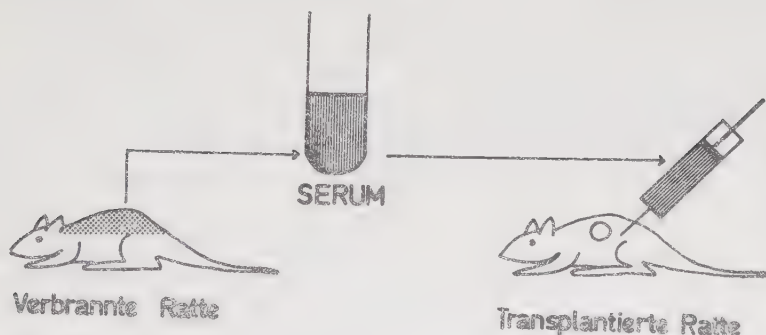


Abb. 4: Versuchsanordnung für die Serumübertragung.
Serum von verbrannten Ratten wird auf nicht verbrannte, transplantierte Ratten übertragen.

8.5.2. GEWINNUNG UND PRÄPARATION DER SEREN:

20 Tiere wurden am 28. Tag, 20 Tiere am 35. Tag nach Verbrühung in Äthernarkose durch Punktion der Bauchaorta entblutet. Das Serum wurde abzentrifugiert, gepoolt und in Portionen von 30 ml aufgeteilt. Ein Teil wurde ohne weitere Maßnahmen belassen: Serum VRS 1. Die Aufbewahrung erfolgte bei -20°C .

Der andere Teil des gepoolten Serums wurde zu gleichen Teilen mit Homogenat von verbrühter Rattenhaut absorbiert und dazu 12 Stunden mit dem Homogenat bei 37°C im Schüttelbad inkubiert: Serum VRS 2.

Das Homogenat von verbrühter Rattenhaut wurde nach der bereits angegebenen Methode hergestellt (8.4.1.).

Die Haut wurde jedoch unmittelbar nach Verbrühung entnommen. Das Serum wurde nach Absorption abzentrifugiert und bei -20°C

aufbewahrt.

Normalserum von Ratten (NRS) wurde durch Entblutung von gesunden Tieren (Gewicht 300 - 500 g) gewonnen. Die Entblutung erfolgte in typischer Weise durch Punktion der Bauchaorta in Äthernarkose. Das Serum wurde gepoolt und bei -20°C aufbewahrt.

B.5.3. VERSUCHSABLAUF:

Für die Serum-Übertragungsversuche wurden 5 Kollektive aus 38 männlichen Sprague-Dawley-Ratten (Gewicht 200 g) gebildet (Tab. 5). Den Tieren wurde in der unter 3.3.1. angegebenen Weise alloogene Haut eines schwarzen BD-C Inzuchtstammes transplantiert. Des von verbrühten Ratten gewonnene Serum VRS 1 und das sterilisierte Serum VRS 2 bzw. normales Serum (NRS) für das Kontrollkollektiv wurde am Tag der Transplantation sowie am 2. und 4. Tag danach übertragen. Es wurden jeweils 3 ml Serum intraperitoneal injiziert.

C. STATISTIK

C.1. BESTIMMUNGSMETHODEN:

Die Berechnung der Körperoberfläche erfolgte nach der von Lee (85) angegebenen Formel: $S = k \times W^{0,6}$.

Die Körperoberfläche S errechnet sich aus dem Gewicht (W) der Tiere und einer Konstanten, für die Lee den Wert 12,5 angibt.

Die Größe der verbrühten Fläche wurde zeichnerisch und gravimetrisch ermittelt; wegen der Eigenschaft der Rattenhaut, während der Verbrühung stark zu schrumpfen, erfolgte die Bestimmung vorher.

Der Umriss der Öffnung des Verbrühungsgerätes wurde auf dem Rücken der Tiere eingezeichnet. Im Abstand von einem halben Zentimeter wurden um diese Fläche herum drei weitere Flächen eingezeichnet und gemessen. Dazu wurden sie auf Millimeterpapier übertragen und in ein Quadrat definierter Größe ($F = 100 \text{ cm}^2$) eingezeichnet. Das Quadrat wurde ausgeschnitten und

gewogen; ebenso wurde die Fläche F_x ausgeschnitten und gewogen. Die Größe der gesuchten Fläche F_x läßt sich dann wie folgt berechnen:

$$F_x \text{ (cm}^2\text{)} = \frac{F_x \text{ (g)}}{F \text{ (g)}} \cdot 100$$

Die Schrumpfung der Haut und damit die aktuelle Fläche der Verbrühung wurde anhand der Ringe sichtbar, die in das verbrühte Areal hineingezogen wurden und die vorher gemessenen Flächen um die Öffnung des Verbrühungsgerätes markierten.

C.2. STATISTISCHE METHODEN:

Zur statistischen Kontrolle der Fehlerbreite diente die Standardabweichung des Mittelwertes $SAX (\bar{x} \pm s\bar{x})$. Die Prüfung auf Normalverteilung der Kollektive wurde mittels der Summenkurve der Verteilung im Wahrscheinlichkeitsnetz durchgeführt (112). Da in den meisten Kollektiven keine Normalverteilung vorlag, wurde ein verteilungsunabhängiges Verfahren gewählt (24), d.h., die Probe auf Signifikanz zweier differenter Mittelwerte wurde mittel Wilcoxon-Test durchgeführt.

D. ERGEBNISSE

D.1. TRANSPLANTATÜBERLEBENSZEITEN:

Keine Behandlung (Abb. 5)

Die Hautübertragung auf gesunde, unbehandelte Tiere diente als Kontrollversuch. Intakte Tiere stoßen das allogene Transplantat im Mittel ($\bar{x} \pm s\bar{x}$) nach $10,4 \pm 0,2$ Tagen ab (s. Abb. 5). Transplantiert man verbrühten Tieren einen Tag nach der Verbrühung Haut eines BD-6 Stammes, überlebt diese Haut ohne Behandlung im Mittel ($\bar{x} \pm s\bar{x}$) $17,6 \pm 1,8$ Tage. Die mittlere Überlebenszeit (MÜZ) ist hier gegenüber intakten Kontrollen signifikant ($2 \alpha \leq 0,01$) um 7 Tage verlängert.

Bei Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung wird von ver-

brühten Tieren die allogene Haut schon wieder nach einer MÜZ von $12,5 \pm 1,1$ Tagen abgestoßen. Die Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit ist im Vergleich mit gesunden Tieren jedoch noch immer statistisch signifikant ($2 \alpha < 0,02$).

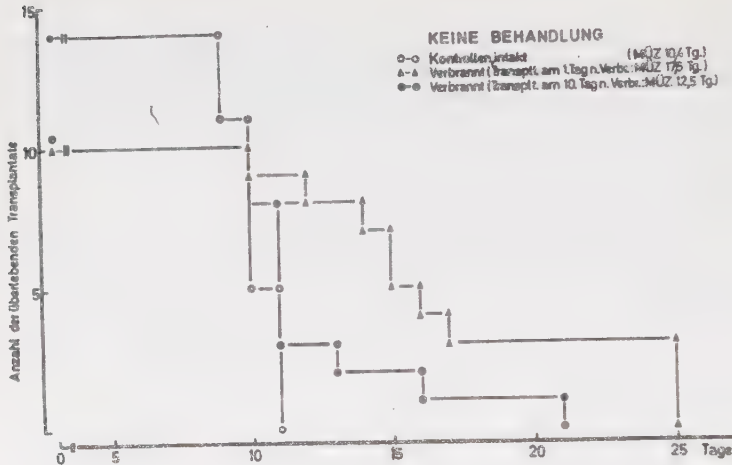


Abb. 5: Überlebenszeit allogener Rattenhauttransplantate bei intakten und verbrühten Tieren.

●: intakte Tiere

▲: verbrühte Tiere, Transplantation am 1. Tag nach der Brühung

●: verbrühte Tiere, Transplantation am 10. Tag nach der Verbrühung.

Die mittlere Transplantatüberlebenszeit (MÜZ) beträgt bei verbrühten Tieren $17,6 \pm 1,9$ Tage, nach Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung $12,5 \pm 1,1$ Tage. Die Verlängerung der MÜZ ist in beiden Fällen signifikant.

Ergebnisse nach Aldosteron-Behandlung (Abb. 6)

Injiziert man nicht verbrühten Tieren Aldosteron in der Dosierung von $2 \times 1 \text{ mg/kg tgl.}$, wird die mittlere Überlebenszeit von allogenen Hauttransplantaten gegenüber unbehandelten Kon-

trolltieren signifikant ($2\alpha < 0,01$) auf $13,2 \pm 0,8$ Tage verlängert. Die MÜZ der Transplantate nach Übertragung auf verbrühte Tiere beträgt $19,4 \pm 1,5$ Tage unter gleicher Behandlung (s. Abb. 6).

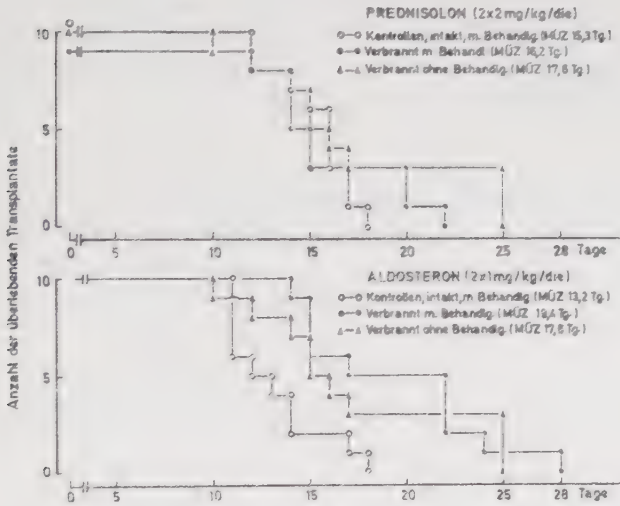


Abb. 6: Überlebenszeiten allogener Hauttransplantate bei intakten und verbrühten Tieren nach Behandlung mit Aldosteron (2×1 mg/kg tgl. s.c.) und Prednisolon (2×2 mg/kg tgl. s.c.) bis zur Abstoßung des Transplantates.

- : intakte Tiere
- : verbrühte Tiere mit Behandlung
- ▲: verbrühte Tiere ohne Behandlung.

Die mittlere Überlebenszeit der Transplantate beträgt unter Aldosteronbehandlung bei intakten Tieren $13,2 \pm 0,8$ Tage, bei verbrühten Tieren $19,4 \pm 1,5$ Tage. Nach Prednisolonbehandlung überlebt die allogene Haut bei verbrühten Tieren $16,2 \pm 1,2$ Tage, bei intakten Tieren $15,3 \pm 0,7$ Tage. Verbrühte Tiere ohne Behandlung stoßen das Transplantat im Mittel nach $17,6 \pm 1,9$ Tagen ab.

ch mit gesunden Tieren, die Aldosteron erhielten, es eine signifikante Verlängerung der Transplantat-

Überlebenszeit ($2 \alpha \leq 0,01$). Vergleicht man jedoch mit den verbrühten Tieren ohne Behandlung (MÜZ 17,6 Tage), wird deutlich, daß sich eine zusätzliche Verlängerung der Transplantat-Überlebenszeit bei verbrühten Tieren statistisch nicht sichern läßt.

Wird die allogene Haut erst 10 Tage nach der Verbrühung übertragen, werfen die Tiere das Transplantat nach einer mittleren Überlebenszeit von $13,8 \pm 1,1$ Tagen. Dieser Wert entspricht der Überlebenszeit, die bei gesunden Tieren unter Aldosteronbehandlung gefunden wird (MÜZ 13,2 Tage).

Ergebnisse nach Prednisolon-Behandlung (Abb. 6)

Eine kontinuierliche Glukokortikoidbehandlung mit Prednisolon in der Dosierung 2×2 mg/kg (tgl. s.c.) verlängert die mittlere Überlebenszeit von allogenen Hauttransplantaten bei intakten Tieren signifikant ($2 \alpha \leq 0,01$) auf $15,3 \pm 0,7$ Tage.

Verbrühte Tiere stoßen unter gleicher Behandlung bei Transplantation am 1. Tag nach Verbrühung die übertragene Haut im Mittel nach $16,2 \pm 1,2$ Tagen ab, d.h., eine Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit durch Prednisolon läßt sich gegenüber dem gleich behandelten, intakten Kollektiv nicht feststellen. Dies gilt auch für den Vergleich mit den verbrühten Tieren ohne Behandlung (MÜZ 17,6 Tage). Eine Verkürzung der Transplantatüberlebenszeit bei den verbrühten Tieren läßt sich wegen der Streuung der Einzelwerte statistisch nicht sichern; es wird jedoch deutlich, daß sich eine Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit durch Prednisolon-Behandlung bei den verbrühten Tieren nicht erzielen läßt.

Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung und anschließende Behandlung mit Prednisolon führt zur Abstoßung der Fremdhauttransplantate nach einer mittleren Überlebenszeit von $13,0 \pm 1,5$ Tagen. Die Verkürzung der Transplantatüberlebenszeit im Vergleich mit gesunden Tieren unter Prednisolonbehandlung (MÜZ 15,3 Tage) ist wegen der Standardabweichung von 1,5 Tagen statistisch genau so wenig zu sichern wie die Verlängerung der MÜZ um einen Tag gegenüber dem vergleichbaren ver-

brühten Kollektiv ohne Behandlung (Kollektiv N; MÜZ 12,5 Tage).

Ergebnisse nach ALS-Behandlung (Abb. 7)

Bei nicht verbrühten Tieren beträgt die mittlere Überlebenszeit allogener Transplantate nach Behandlung mit ALS $20,7 \pm 1,4$ Tage; das ist eine signifikante Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit von im Mittel 10 Tagen gegenüber gesunden Tieren ohne Behandlung (MÜZ 10,4 Tage). Auch bei verbrühten Tieren läßt sich durch Gabe von ALS eine eindrucksvolle Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit erzielen. Die mittlere Transplantatüberlebenszeit beträgt bei Transplantation am 1. Tag nach Verbrühung $29,0 \pm 3,0$ Tage und ist damit signifikant ($2 \alpha < 0,01$) um 11,4 Tage gegenüber den unbehandelten, verbrühten Kontrolltieren (MÜZ 17,6 Tage) verlängert.

Diese Beobachtung gilt auch für die Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung. Die MÜZ der Transplantate betrug mit ALS-Behandlung $26,4 \pm 3,1$ Tage gegenüber $12,5 \pm 1,1$ Tagen ohne Behandlung.

Beim Vergleich mit den intakten Tieren, die mit ALS behandelt wurden, läßt sich feststellen, daß ALS bei den verbrühten Tieren eine zusätzliche Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit bewirkt. Sie beträgt bei Transplantation am 1. Tag nach Verbrühung im Mittel 8 Tage, ist jedoch wegen der großen Streuung der Einzelwerte statistisch nicht signifikant. Bei Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung beträgt die zusätzliche Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit im Mittel 5 Tage ($2 \alpha < 0,01$). Bemerkenswert ist die Tatsache, daß ein Tier dieses Kollektivs Q das Transplantat, das schwarz behaart war, während der ganzen Versuchsserie tolerierte (Beobachtungszeit: 6 Monate).

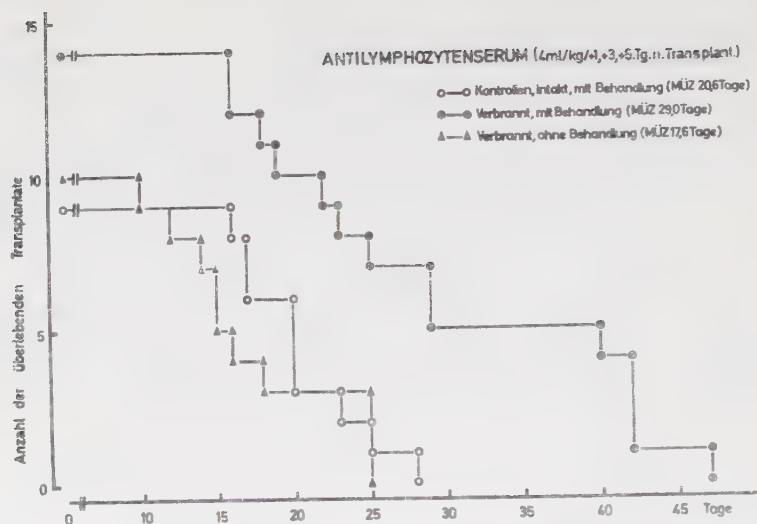


Abb. 7: Überlebenszeit allogener Hauttransplantate bei intakten und verbrannten Tieren nach Behandlung mit Antilymphozytenserum (4 ml/kg i.p.) am 1., 3. und 5. Tag nach Transplantation.

●: verbrühte Tiere mit ALS-Behandlung

○: intakte Tiere mit ALS-Behandlung

▲: verbrühte Tiere ohne Behandlung.

Die MÜZ der Transplantate beträgt für verbrühte Tiere ohne Behandlung $17,6 \pm 1,3$ Tage, für intakte Tiere unter ALS-Therapie $20,6 \pm 1,3$ Tage. Nach Verbrühung und ALS-Gabe wird die allogene Haut im Mittel erst nach $29,0 \pm 3,0$ Tagen abgestoßen.

Ergebnisse nach ALS-Aldosteron-Behandlung (Abb. 8)

Bei gesunden Tieren verlängert die kombinierte ALS-Aldosteron-Behandlung die Transplantatüberlebenszeit gegenüber den ausschließlich mit ALS behandelten Tieren auf $23,2 \pm 2,1$ Tage.

Bei verbrannten Tieren ist dieser Effekt der Kombinationsbehandlung nicht mehr nachweisbar. Im Vergleich mit den gesunden Tieren ist die MÜZ der Transplantate bei Transplantation am 1. Tag nach Verbrühung deutlich, wenn auch nicht signifikant, auf $18,8 \pm 1,1$ Tage verkürzt. Im Vergleich mit den unbehandel-

ten, verbrühten Tieren (MÜZ 17,6 Tage) wird deutlich, daß sich durch die kombinierte ALS-Aldosteron-Behandlung keine Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit erzielen läßt. Erstaunlicherweise befand sich jedoch auch in diesem Kollektiv ein Tier, das die Übertragene Fremdhaut über die gesamte Dauer der Versuche tolerierte (Beobachtungszeit: 6 Monate).

Bei Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung wurde eine mittlere Überlebenszeit der allogenen Haut von $23,3 \pm 2,6$ Tagen gefunden. Dieser Wert entspricht dem bei nicht verbrühten Tieren gefundenem Wert (MÜZ 23,2 Tage).

Vergleich zwischen ALS und ALS-Aldosteron-Behandlung

Vergleicht man das Resultat einer immunsuppressiven Therapie nach Verbrühung mit ALS allein (MÜZ 29,0 Tage), ergibt sich, daß unter der Kombinationsbehandlung die mittlere Überlebenszeit der Transplantate sogar signifikant um 10,5 Tage verkürzt ist ($2 \alpha \leq 0,05$). Auch bei Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung ist dieser Effekt zu beobachten. Die Verkürzung der Transplantatüberlebenszeit unter der kombinierten ALS-Aldosteron-Behandlung beträgt im Mittel 3,2 Tage und ist bei Zulassen einer 10 %igen Irrtumswahrscheinlichkeit noch signifikant ($2 \alpha \leq 0,1$).

Ergebnisse nach ALS-Prednisolon-Behandlung (Abb. 8)

Bei kombinierter ALS-Prednisolon-Behandlung beträgt die mittlere Transplantatüberlebenszeit bei nicht verbrühten Tieren $32,0 \pm 0,7$ Tage, ein Hinweis auf die deutliche Verstärkung der ALS-Wirkung durch Prednisolon. Dieser Effekt ist nach Verbrühung nicht mehr nachweisbar. Die mittlere Überlebenszeit unter ALS-Prednisolon-Behandlung bei Transplantation am 1. Tag nach Verbrühung beträgt $30,7 \pm 2,3$ Tage. Da die mittlere Überlebenszeit der Transplantate durch ALS bereits auf 29 Tage verlängert ist, läßt sich eine zusätzliche Wirkung von Prednisolon nach der Verbrühung nicht objektivieren. Es ließe sich im Gegenteil eine Tendenz zu früherer Abstoßung ableiten, die im Vergleich mit den Ergebnissen bei Transplantation am 10. Tag nach Ver-

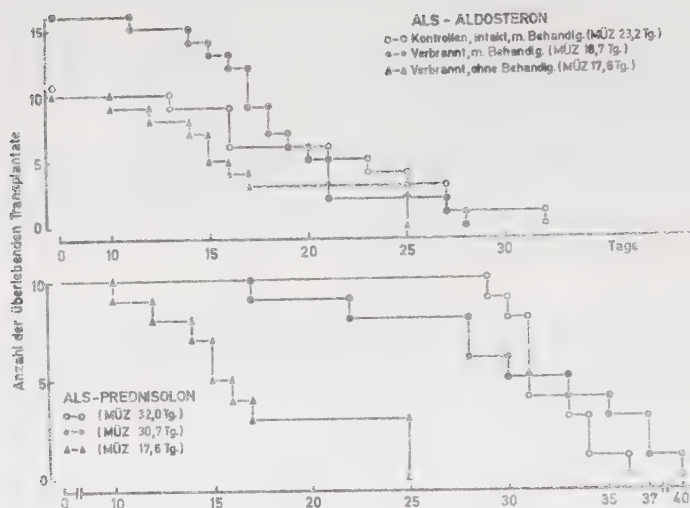


Abb. 8: Überlebenszeit allogener Transplantate bei intakten Tieren nach ALS-Aldosteron- bzw. ALS-Prednisolon-Behandlung.
 ALS (4 ml/kg am 1., 3. und 5. Tag
 Aldosteron (2 x 1 mg/kg/die s.c.)
 Prednisolon (2 x 2 mg/kg/die s.c.)
 MÜZ unter ALS-Prednisolon 32,0 $\pm$ 0,7 Tage bei intakten Tieren bzw. 30,7 $\pm$ 2,3 Tage bei verbrannten Tieren.
 MÜZ unter ALS-Aldosteron-Behandlung für intakte Tiere: 23,2 $\pm$ 2,1 Tage; für verbrannte Tiere: 18,8 $\pm$ 1,1 Tage.

brührung deutlich wird.

bei Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung beträgt die mittlere Überlebenszeit der transplantate 26,1 $\pm$ 2,4 Tage. Dies bedeutet im Vergleich mit den unbehandelten verbrannten Tieren (MÜZ 12,5 Tage) zwar eine Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit, beim Vergleich mit dem intakten Kontrollkollektiv (MÜZ 32,0 Tage) läßt sich jedoch feststellen, daß nach Verbrühung die Überlebenszeit der Transplantate unter dieser Behandlung signifikant kürzer ist. (2 alpha $\leq$ 0,05).

Vergleich zwischen ALS-Prednisolon und ALS-Aldosteron-Behandlung

Bei Transplantation am 1. Tag nach Verbrühung zeigt die immunsuppressive Behandlung mit ALS-Prednisolon eine deutliche Überlegenheit in Bezug auf die Verzögerung der Abstoßungsreaktion. Die Tiere von Kollektiv M (MÜZ 30,7 Tage) verwarfen das Transplantat im Mittel 12 Tage später als die Tiere von Kollektiv L (MÜZ 18,7 Tage).

Dagegen ist bei Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung kein signifikanter Unterschied der Transplantatüberlebenszeiten feststellbar. Die Transplantatüberlebenszeit beträgt für Kollektiv R (ALS-Prednisolon) 26 Tage, bei einer Standardabweichung des Mittelwertes von 2 Tagen für beide Kollektive.

D.2. MORTALITÄT

Die Mortalität der einzelnen Kollektive ergibt sich aus Tabelle 4. Es wird ersichtlich, daß bei Gabe von Antilymphozytenserum (Kollektiv K) die Mortalität auf das Doppelte des unbehandelten Kontrollkollektivs ansteigt. Ebenso weist Kollektiv M, das mit Prednisolon und ALS behandelt wurde, eine doppelt so hohe Mortalität auf wie Kollektiv J, das nur Prednisolon zur Immunsuppression erhielt. Dagegen fällt auf, daß bei Kombination mit Aldosteron die Mortalität gesenkt wird. Bei Prüfung auf signifikante Unterschiede der Mortalität der Kollektive ergaben sich jedoch keine statistisch zu sichernden Differenzen.

D.2.1. FRÜHMORTALITÄT

Die Frühmortalität umfaßt den Zeitraum innerhalb der ersten 4 Tage nach Verbrühung. Diese Tiere wiesen keine besonderen Symptome auf, und ihre Anzahl war so gering, daß sie nicht gesondert berücksichtigt wurden.

D.2.2. SPÄTMORTALITÄT - "wasting disease"

Alle Tiere, die nach den ersten 4 Tagen nach Verbrühung starben, entwickelten ein gleichartiges Krankheitsbild. Sie nahmen stetig an Gewicht ab, wurden apathisch und hochgradig kachektisch.

Tab. 4: Mortalität, Todestag, Gewichtsabnahme und Sektionsbefund der Tiere in den einzelnen Kollektiven.

Kollektiv	Mortalität (%)	Nr.	✝	Gewichts- abnahme (%)	Sektionsbefund
G Kontrolle	16,7	191 192	2.	2,6 ?	
H Aldosteron	15,4	162 181	11. 12.	? ?	
J Prednisol.	15,4	156 190	7. 17.	39,5 25,0	Kachexie, erhebliche Bronchopneum.
K ALS	32,2	108 109 212 213 42 43 200 218 226	2. 2. 4. 4. 14. 18. 10. 9. 9.	2,2 2,1 2,0 2,0 24,0 31,9 19,1 18,0 18,1	Herdpneumonie Exsudative Pleuropneumonie
L ALS/ALD	22,6	58 70 79 82 100 106 219	11. 11. 5. 5. 6. 8. 7.	14,9 30,4 2,3 2,2 12,5 21,7 4,1	Exsudative Pleuropneumonie
M ALS/Predn.	35,3	53 54 55 60 61 194	11. 11. 14. 10. 12. 12.	16,7 20,0 25,6 21,7 27,9 18,8	Exsudative Pleuritis, Pneumonie
Q ALS	20,0	111 116	7. 17.	5,0 24,4	
R	10,0	134	9.	22,0	

✝ = gestorben (Tag nach Verbrühung)

Wie aus Tabelle 4 zu entnehmen ist, betrug der Gewichtsverlust bis zu 39 % des Ausgangsgewichtes. Auffällig war bei allen Tieren blutige Nasen, als deren Ursache in allen stellvertretend sezierten Fällen eine schwere Bronchopneumonie festgestellt wurde. Das Fell war gestäubt und struppig, der Gang eigenartig hochbeinig. Dieser charakteristische Symptomenkomplex wird in der anglo-amerikanischen Literatur unter dem Begriff "wasting disease" zusammengefaßt.

D.3. AUTOIMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

Mit jedem der drei absorbierten Seren (B.4.3.) wurde ein Agar-Gel-Diffusionstest gegen Homogenat von gesunder und verbrühter Rattenhaut durchgeführt.

Es fand sich nur in dem Bereich, wo absorbiertes Serum 3 gegen Homogenat von verbrühter Haut diffundiert war, eine Präzipitationslinie (Abb. 9). Serum 1 und Serum 2 wiesen weder gegen Homogenat von verbrühter noch gegen Homogenat von gesunder Rattenhaut eine Präzipitationslinie auf.

Da in dem Homogenat aus verbrühter Haut im bakteriologischen Abstrich Enterokokken nachgewiesen wurden, wurde zum Ausschluß einer bakteriell bedingten Antigen-Antikörperreaktion ein Formamidextrakt dieser Enterokokken hergestellt. Der Agar-Gel-Diffusionstest dieses Bakterienextraktes gegen Serum 3 ließ keine Präzipitationslinie erkennen.

Zum sicheren Ausschluß von Bakterienantigenen wäre jedoch ein Diffusionstest mit Standard-Lancefield-Serum gegen Serum 3 notwendig gewesen. Dieser Nachweis konnte nicht durchgeführt werden, da die aus dem Homogenat gezüchteten Enterokokken kein identifizierbares Gruppenantigen besaßen.

D.4. SERUMÜBERTRAGUNGSVERSUCHE

Um zu prüfen, ob die Ergebnisse der Transplantationsversuche möglicherweise durch die Wirkung von verbrühten Tieren gebildeter Enhancing-Faktoren erklärt werden könnte, wurden Serumübertragungsversuche gemacht. Die Versuche mit Kollektiv T und U waren orientierende Vorversuche.

Agar-Gel-Diffusionstests nach OUCHTERLONY:



Abb. 9: Darstellung der Präzipitationslinie gegen verbrühte Haut mit absorbiertem Serum 3.

VH = Homogenat von verbrühter Haut

GH = Homogenat von gesunder Haut

1 = absorbiertes Serum 1

2 = absorbiertes Serum 2

3 = absorbiertes Serum 3.

Die Tiere von Kollektiv T, die mit Serum von verbrühten Ratten (VRS I) behandelt worden waren, wiesen eine signifikante Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit auf. Die mittlere Überlebenszeit betrug $13,6 \pm 1,0$ Tage gegenüber den Tieren von Kollektiv U mit $10,5 \pm 0,3$ Tagen. Um dieses Überraschende Ergebnis zu überprüfen und eventuell etwas abzuklären, wurden die Versuche mit einer größeren Anzahl von Tieren wiederholt. Ausserdem wurde ein Kollektiv mit Serum von verbrühten Ratten behandelt, das vorher mit Homogenat von verbrühter Haut absorbiert worden war, und folglich keine Enhancing-Faktoren mehr enthalten sollte.

Tab. 5: Überlebenszeit allogener Hauttransplantate bei gesunden Tieren nach Übertragung von Serum von verbrühten Tieren.

Behandlung	Dosierung	MÜZ $\pm$ SAM	n
T VRS I	3x3ml/Tag:0,+2,+4	13,6 $\pm$ 1,0	8
U NRS	3x3ml/Tag:0,+2,+4	10,5 $\pm$ 0,3	4
V VRS I	3x3ml/Tag:0,+2,+4	13,8 $\pm$ 0,5	9
W VRS II	3x3ml/Tag:0,+2,+4	14,9 $\pm$ 1,2	9
Z NRS	3x3ml/Tag:0,+2,+4	13,8 $\pm$ 1,1	7

NRS = Normalrattenserum

VRS I = Serum von verbrühten Ratten

VRS II= mit Homogenat von verbrühter Haut absorbiertes Serum von verbrühten Ratten

MÜZ = mittlere Überlebenszeit

SAM = Standardabweichung des Mittelwerts.

D.4.1. WIEDERHOLUNG DER VERSUCHE

Die Tiere von Kollektiv V, die mit VRS I in der angegebenen Dosierung (Tab. 5) behandelt worden waren, wiesen wieder eine mittlere Überlebenszeit der Transplantate von 13,8 $\pm$ 0,5 Tage auf. Die Tiere von Kollektiv W, die mit absorbiertem Serum (VRS II) - das keine Enhancing-Faktoren mehr enthalten dürfte - behandelt worden waren, zeigten trotzdem eine Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit auf 14,9 $\pm$ 1,2 Tage.

Auch bei den Tieren von Kollektiv Z, die Normalserum von Ratten erhalten hatten, kam in dieser Versuchsserie eine Verlängerung der Transplantatüberlebenszeiten von 13,8 $\pm$ 1,1 Tagen zur Beobachtung.

Es ließ sich somit kein signifikanter Unterschied der Seren hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Transplantatüberlebenszeit objektivieren.

E. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Zur Erzeugung standardisierter Brandwunden an Ratten stehen grundsätzlich zwei Methoden zur Verfügung: Die Verbrennung mit konstant erwärmten Metallkörpern (21, 65, 75) oder die Verbrühung mit heißem Wasser (9, 12, 96, 99, 128).

Während die Verbrennung mit dem Metallstempel meist für Untersuchungen über lokale Vorgänge an kleinen, gut abgegrenzten Brandwunden bevorzugt wird, eignet sich die Verbrühung mehr für großflächige Verbrennungen zum Studium allgemeiner Veränderungen des Organismus. Dies ist mit dem Metallstempel, der stets mehrere Male und zeitlich hintereinander aufgesetzt werden muß, wobei keine Gewebsbrücken stehen bleiben dürfen, wesentlich komplizierter durchzuführen.

Nach neuen Untersuchungen von SCHOENENBERGER et al (130) bestehen jedoch wahrscheinlich grundsätzliche Unterschiede zwischen der Verbrennung und der Verbrühung, die man in Zukunft bei der Auswahl der Methode berücksichtigen muß.

Die Änderung der Immunantwort nach Verbrennung, die das Thema zu der vorliegenden Arbeit bildete, setzt allgemeine Veränderungen des gesamten Organismus voraus. Wir wählten deshalb die Verbrühung als Verbrennungsmethode. Empirisch stellte sich ein Verbrennungsumfang von ca. 15 % der Körperoberfläche als schwer genug heraus, um Veränderungen des Immunsystems erkennen zu lassen, ohne mit einer primären Mortalität belastet zu sein. Für standardisierte Verbrennungen dieses Ausmaßes eignet sich am besten die Methode nach ARTURSON (9), wobei das Versuchstier in eine enganliegende Wanne gebracht wird, die den Rücken des Tieres zur Verbrennung frei läßt. Für größere Verbrennungen wie z.B. 30 % der Körperoberfläche muß die Öffnung so groß gewählt werden, daß Gefahr besteht, daß das Tier durchfällt. Hier ist die Methode nach McCARTHY (99) vorzuziehen, wobei das Tier nach Markierung der zu verbrennenden Fläche in das Wasser getaucht wird.

E.1. TRANSPLANTATION

Die allogene Haut wurde in das gesunde Hautareal übertragen, da Transplantate, die in das verbrannte Gewebe übertragen wurden, nicht angingen. Möglicherweise war bei Verpflanzung in das verbrannte Gebiet, wo das Transplantat von drei Seiten von nekrotischem Gewebe begrenzt wurde, die Ernährung vom Rande her so schlecht, daß es deshalb zugrunde ging. Ein Beispiel zeigt die Abbildung 10, wo dasselbe Transplantat, begrenzt von verbrannter Haut, bereits nekrotisch ist, während der andere Teil noch keine Veränderungen zeigt.

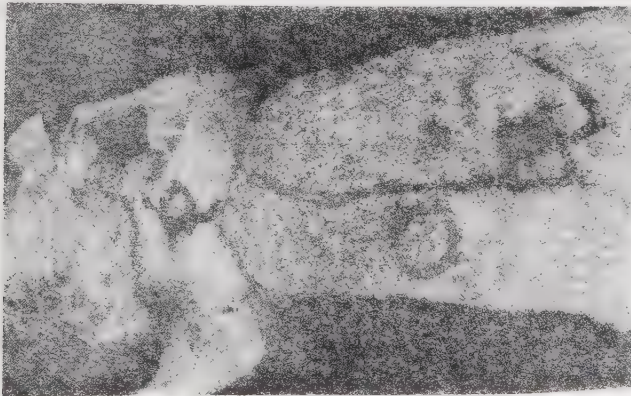


Abb. 10

Histologisch zeigten sich unter den in das verbrannte Areal übertragenen Transplantaten nur segmentkernige Granulozyten. Es fand sich keine Beteiligung immunkompetenter Zellen und somit kein Hinweis auf eine zelluläre Immunreaktion. Das Granulationsgewebe unter den Transplantaten im gesunden Hautareal enthielt dagegen einen hohen Anteil rundkerniger Zellen, die teilweise Lymphozyten, teilweise Plasmazellen und vereinzelt sog. lymphoblastenähnlichen Zellen entsprachen. Die vorwiegend perivaskulär gelegenen Rundzellinfiltrate fanden sich in den äußeren Coriumschichten und in der Subkutis. Diese Veränderungen entsprechen einer Infiltration mononukleärer Zellen,

wie man sie bei akuter Transplantatreaktion findet.

Da immunologische Gründe für das Absterben der Transplantate nicht verantwortlich waren, wurde die Transplantatreaktion nur an Transplantaten studiert, die in das gesunde Hautareal verpflanzt worden waren. Die Ergebnisse sind gut vergleichbar mit entsprechenden Ergebnissen in der Literatur, da die meisten Autoren auch in das gesunde Gewebe transplantierten (66, 118, 119).

Die Beurteilung der Abstoßungsreaktion erfolgte wie üblich makroskopisch. Nach Untersuchungen von GOTJAMANOS (55) entsprechen die makroskopischen Veränderungen relativ gut den histologischen Kriterien der Abstoßung.

E.2. DIE TRANSPLANTATREAKTION NACH VERBRENNUNG

Vergleichbar mit unseren Versuchen sind die Versuche von RAPAPORT (119), der bei verbrannten Ratten (30 % der Körperoberfläche) ohne Behandlung eine Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit bis zum Ende der 3. Woche beobachtete. Die Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit betrug in unseren Versuchen nur eine Woche gegenüber gesunden Kontrolltieren. Das kann sowohl dem geringeren Umfang des Traumas zuzuschreiben sein als auch der stärkeren Histoinkompatibilität in dem vom uns gewählten Spender-Empfänger-System. Die Angaben von RAPAPORT "normal donors" erlauben hierzu keine Schlüsse.

Die Ursachen, die zur Veränderung der Immunitätslage nach Verbrennung führen, sind zur Zeit noch unbekannt. In der Literatur werden vier Hypothesen diskutiert, die ich im folgenden unter Einbeziehung unserer Versuchsergebnisse diskutieren möchte:

E.2.1. GEMEINSAME TRANSPLANTATIONSANTIGENE ("sharing of tissue transplantation antigens")

Es ist bekannt und experimentell belegt, daß die Überlebenszeit von Transplantaten der Übereinstimmung im HL-A-System, d.h. der Anzahl der gemeinsamen Transplantationsantigene, direkt korre-

liert ist (25, 26). Bei nahem Verwandtschaftsgrad ist daher eine bessere Gewebeverträglichkeit als bei nicht verwandten Spendern anzunehmen.

Eine Verlängerung der Überlebenszeit allogener Hauttransplantate durch Verbrennung wird nicht nur beim Versuchstier, sondern auch am Menschen beobachtet (26, 75, 77). Da nach Verbrennung bei Hautübertragung auf Menschen meist verwandte Spender herangezogen werden, um die Transplantatreaktion möglichst zu verzögern, wäre es möglich, das Phänomen der verzögerten Abstoßung darauf zu beziehen.

Vergleichende Untersuchungen zeigten aber, daß auch inkompatible Hauttransplantate bei dem gleichen Empfänger nach Verbrennung eine höhere Überlebensrate haben als bei Gesunden (26). Für unsere Versuche ist diese Hypothese von vornherein nicht relevant, da wir absichtlich Spendertiere gewählt hatten, die sich von dem Empfängern bezüglich des H2-Locus unterschieden, der bekanntlich die stärkste Histoinkompatibilitätsbarriere darstellt. Als Erklärung für die verzögerte Transplantatabstoßung ist diese Hypothese daher sicher unzureichend.

Experimentell besser zu belegen sind drei andere Hypothesen, die als mögliche Ursache für das Phänomen der verzögerten Transplantatreaktion nach Verbrennung diskutiert werden:

E.2.2. ANTIGENER WETTBEWERB ("competition of antigens"),

E.2.3. ERHÖHTE SEKRETION VON CORTICOSTEROIDEN,

E.2.4. IMMUNPARALYSE.

E.2.2. ANTIGENER WETTBEWERB

Die Vermutung, daß vom Ort der Verbrennung antigenes Material vermehrt in den Organismus gelangt, führte zu dem Gedanken des antigenen Wettbewerbs ("competition of antigens") als Ursache der verzögerten Transplantatreaktion (119).

Antigener Wettbewerb besagt, daß durch die gleichzeitige Zufuhr von mehreren Antigenen die Immunantwort auf das einzelne Antigen abgeschwächt werden kann. Das ließ sich für die Produktion von humoralen Antikörpern (1, 2), für die Transplantat-

reaktion (137) und die Reaktion vom verzögerten Typ nachweisen (47).

Antigener Wettbewerb wird auch als Erklärung für das Phänomen herangezogen, daß durch Blockierung des RES mit nicht-antigenen, kolloidalen Substanzen die Immunantworten: Antikörperbildung (125), Transplantatreaktion (87) und verzögerte Überempfindlichkeit (52) unterdrückt werden können. Diese Beobachtung ist in dem hier diskutierten Zusammenhang deshalb interessant, weil nach Verbrennung regelmäßig eine Depression des RES beobachtet wird (59, 88, 129). Die Phagozytose von Testsubstanzen, z.B. kolloidale Kohle (98), Lipide (59), O^{51} -Erythrozyten (129), verläuft nach Verbrennung signifikant langsamer als bei den gesunden Kontrollen.

Vom immunologischen Standpunkt ist die verminderte Phagozytosefähigkeit deshalb von Bedeutung, da den Makrophagen eine bedeutende Rolle während jeder Form der Immunantwort zuzukommen scheint (31, 37, 70, 135). Die zur Zeit gültige Meinung geht dahin, daß Makrophagen das Antigen verarbeiten und in Form eines Antigen-RNA-Komplexes den Lymphozyten präsentieren. Dieser Vorgang setzt den weiteren Verlauf der Immunantwort in Gang.

Die Rolle der Makrophagen bei der Transplantatreaktion ist noch nicht so klar definiert; immerhin konnte gezeigt werden, daß ein Antimakrophagenserum die Transplantatüberlebenszeit verlängert (84).

In Anbetracht der Auswirkung einer künstlichen RES-Blockade auf die Immunantwort ist man versucht, eine Parallele zur RES-Depression nach Verbrennung zu ziehen. Die Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit ließe sich dann auf eine funktionelle Beeinträchtigung der Makrophagen zurückführen, entweder auf dem Boden einer echten Zellschädigung oder durch einen Mechanismus im Sinne eines antigenen Wettbewerbs.

Fraglich bleibt jedoch, ob man beide Formen der RES-Depression gleichsetzen und daraus Schlüsse hinsichtlich ihrer Auswirkung auf die Immunantwort ziehen kann. So wird die Blockierung mit kolloidaler Kohle weitgehend für atoxisch gehalten (18), wäh-

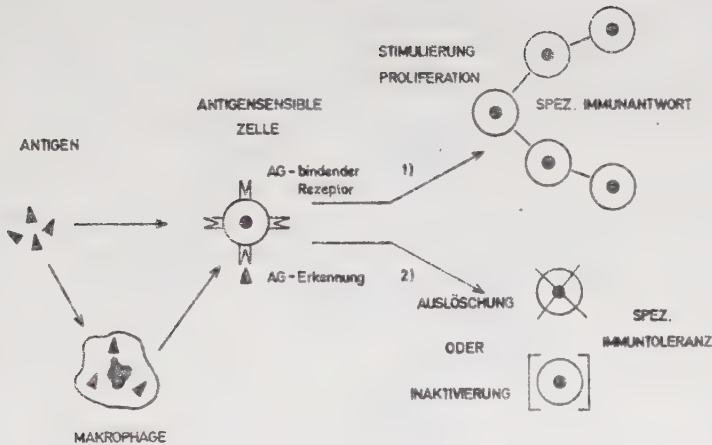


Abb. 11: Schema der Immunreaktionen (nach W. Land)

rend der verminderten Phagozytose nach Verbrennung vielleicht ein toxischer Zellschaden zugrunde liegt (8, 71). Nach FISHMAN (46) bestehen die Makrophagen außerdem aus einer heterogenen Population, nämlich den Abräumzellen, den antigenkonservierenden und den antigenverarbeitenden Zellen, so daß die Beeinträchtigung der Phagozytose nicht notwendig mit einer eingeschränkten Immunkompetenz dieser Zellen gleichbedeutend sein muß. Gegen die Annahme, daß der Verzögerung der Transplantatreaktion eine Blockierung des RES zugrunde liegt, kann auch die Tatsache sprechen, daß die RES-Depression nach Verbrennung normalerweise nicht länger als 48 Stunden dauert (88, 129). Kontinuierliche Verminderung des Phagozytoseindex ist nach Versuchen von LEMPERLE und HANBACK korreliert mit dem Tod der Tiere (88, 59). Dies trifft bei unseren Versuchen nicht zu, da von den immunsuppressiv behandelten Tieren, die zum Studium der Transplantatreaktion zur Beobachtung kamen, alle die Abstoßung über-

lebten. Zum anderen wiesen auch die Tiere, die erst am 10. Tag nach Verbrennung transplantiert wurden, noch eine signifikante Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit auf. Zu dieser Zeit befindet sich das RES nach SCHILDT (129) jedoch in einer Phase der Hyperaktivität, was bedeuten würde, daß die Transplantatreaktion beschleunigt ablaufen müßte. Dies ist jedoch nicht der Fall.

Während die Rolle der Makrophagen bei der Transplantatreaktion und der Überempfindlichkeit vom Spättyp (z.B. Tuberkulinreaktion) noch umstritten ist, herrscht Übereinstimmung in der Auffassung, daß diese Immunreaktionen durch die sensibilisierte Lymphzelle vermittelt werden. Versuche an neonatal thymektomierten Tieren haben gezeigt, daß diese Form des Immunantwort an das Vorhandensein von langlebigen Lymphozyten - T-Zellen - gebunden ist (6), eben jene Population von Lymphozyten, die nach Thymektomie fehlt (105). Diese Tiere sind unfähig zur Transplantatabstoßung (102) und weisen eine verminderte Überempfindlichkeit vom Spättyp auf (6, 140), dagegen ist die Bildung von humoralen, thymusunabhängigen Antikörpern ungestört. Es findet sich hier eine auffallende Parallelität zu den Veränderungen nach Verbrennung, die in Verbindung mit den folgenden Befunden in eine bestimmte Richtung weisen.

Morphologische Veränderungen des gesamten lymphatischen Systems nach Verbrennung sind das erste Mal von BARDEEN (14) und WEISKOTTEN (143) beschrieben und in neuerer Zeit von BAKER (13), SEVITT (131) und SACHS (126) untersucht und bestätigt worden. Charakteristisch sind Lymphopenie im peripheren Blut und Nekrosen im gesamten lymphatischen Gewebe. Besonders betroffen sind die Keimzentren der Lymphknoten und die Malpighischen Körperchen der Milz, die Degeneration und Nekrosen der Zellen mit Karyorrhexis aufweisen.

BARDEEN (14) und FENDER (43) führten die Veränderungen auf "Toxiämie" zurück, da sie die gleichen histologischen Veränderungen nach Erkrankung an Diphtherie und Scharlach beobachtet hatten. Der Arbeitsgruppe um ALLGÖWER gelang es kürzlich, aus verbrannter Haut einen bei Verbrennung auftretenden toxischen

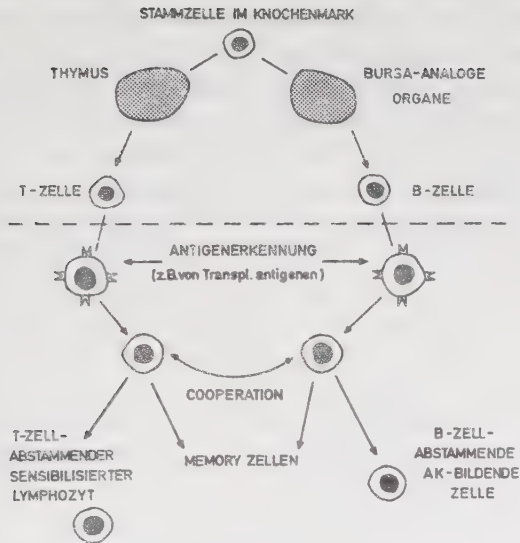


Abb. 12: Scheme des T- und B-Zellen-Immunsystems (nach W. Land).

Lipid-Protein-Komplex zu isolieren und zu charakterisieren (130). Dadurch gewinnt das seit langem diskutierte Problem eines spezifischen, auf physikalisch-chemischem Weg durch Hitze entstandenen Verbrennungstoxins wieder an Bedeutung.

In vitro-Untersuchungen an isolierten Lymphozyten von verbrannten Patienten haben übereinstimmend Veränderungen der Zelle nach Verbrennung gezeigt, deren gültige Deutung allerdings noch aussteht; die Synthese von RNS und DNS ist mit und ohne Stimulation durch Phytohämagglutinin eindeutig erhöht (29, 30, 86).

Zusammen legen diese Befunde jedenfalls den Gedanken nahe, die Stelle der Veränderung im immunologischen Geschehen auf Ebene der immunkompetenten Lymphozyten zu suchen.

Als einen Hinweis dafür könnte man das Ergebnis der Transplantatreaktion nach ALS-Behandlung interpretieren. Wir beobachteten nach Verbrühung und Behandlung mit ALS eine erhebliche Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit. Dieser Befund steht im Einklang mit der Beobachtung von KOUMANS (80), HOLDER (66) und FILIPPI (44), die auch über eine Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit nach experimenteller Verbrühung und ALS-Behandlung berichten. In unseren Versuchen wurde die Haut bei den mit ALS behandelten, verbrühten Tieren im Mittel erst eine Woche später abgestoßen als bei den gesunden Tieren unter gleicher Behandlung. Dieser anhaltende Effekt läßt auf eine gleichartige oder synergistische Wirkung von Verbrühung und ALS schließen.

Der Gedanke liegt daher nahe, das Auftreten einer veränderten immunologischen Reaktionslage nach Verbrühung auf einen ähnlichen Mechanismus, wie die Wirkungsweise von ALS, zu beziehen. Man nimmt an, daß ALS hauptsächlich auf die langlebigen, zirkulierenden Lymphozyten einwirkt (41, 82, 107), die die Transplantatreaktion und die Überempfindlichkeit vom Spättyp vermitteln (124). Diese Zellen haben eine lange Lebensspanne bei einem raschen Wechsel zwischen Lymphknoten und peripherem Blut. Daher lassen sich trotz geringer Penetrationsfähigkeit der ALS-Antikörper in den Lymphknoten Transplantatreaktion und Überempfindlichkeit vom Spättyp mit ALS anhaltend unterdrücken.

Die Vorstellung eines ähnlichen Wirkungsprinzips durch Verbrennung auf Lymphozyten geht dahin, daß nach Verbrennung diese durch einen noch unbekannten Vorgang zerstört werden, wofür es in den histologischen Veränderungen des lymphatischen Systems nach Verbrennungen sogar ein morphologisches Äquivalent geben würde. Sollte sich das Vorhandensein eines spezifischen Verbrennungstoxins tatsächlich bestätigen, so ließe sich seine Wirkung rein spekulativ ähnlich wie die ALS-Wirkung vorstellen: Gerade die peripheren, zirkulierenden Lymphozyten wären dem Risiko der Zerstörung besonders ausgesetzt, wie die Entleerung der paracorticalen Zonen und die Lymphopenie im peripheren Blut zeigt.

Diese Vorstellung bietet gleichzeitig auch eine annehmbare Erklärung für die selektive Depression der zellgebundenen Immunität und ihre lange Dauer. Es werden hauptsächlich die zirkulierenden T-Lymphozyten zerstört, die die zellulären Immunreaktionen vermitteln. Da diese Zellen eine lange Lebensspanne haben und entsprechend langsam rekrutiert werden (82), resultiert die lange Dauer der Immundepression. Die additive Wirkung von ALS und Verbrennung ließe sich über diesen gemeinsamen Angriffspunkt erklären.

Ein gleichartiger Effekt läßt sich auch in der Wirkung auf die Makrophagen feststellen. ALS induziert eine signifikante Depression der Phagozytosefähigkeit des RES (57, 97, 113, 134), die in Ablauf und Dauer der RES-Depression nach Verbrennung entspricht. Über die Ursache der depressiven Wirkung von ALS auf die Phagozytose ist ebenso wenig sicher bekannt wie nach Verbrennung. Neben einer direkt toxischen Wirkung auf die Makrophagen, die von PISANO (113) nachgewiesen wurde, wird auch ein antigener Wettbewerb diskutiert (134), da man nach Gabe von ALS eine massive Anhäufung von phagozytierten Lymphozyten in Makrophagen von Leber, Milz und Lymphknoten gefunden hat (41). Wie schon aufgeführt, kommen die gleichen Faktoren auch als auslösende Ursache der RES-Depression nach Verbrennung in Frage, d.h., es wäre nicht nur eine gleichsinnige Wirkung von ALS und Verbrennung auf das lymphozytäre System, sondern auch auf das RES denkbar.

E.2.3. ERHÖHTE SEKRETION VON CORTICOSTEROIDEN

Außer einer additiven Wirkung von ALS und Verbrennung über ein noch nicht sicher bewiesenes Verbrennungstoxin läßt sich auch eine synergistische Wirkung von ALS und Verbrennung auf der Basis einer erhöhten Sekretion von Corticosteroiden diskutieren. Dies ist eine der Arbeitshypothesen, die allgemein zur Erklärung der immunologischen Veränderungen nach Verbrennung herangezogen wird.

Bei den Versuchen zur immunsuppressiven Therapie nach Verbrennung mit Prednisolon fällt auf, daß sich damit, im Gegensatz

zur ALS-Behandlung, alleine als auch in der kombinierten Therapie (ALS + Prednisolon) keine zusätzliche Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit bei den verbrannten Tieren erzielen ließ.

Die Wirkung von Glukokortikoiden auf die Transplantatreaktion ist seit den Arbeiten von BILLINGHAM (19) experimentell ausgiebig untersucht und bildet mittlerweile einen unerläßlichen Bestandteil der klinischen Immunsuppression. Allein angewendet ist es relativ schwach wirksam, vermochte aber, wie unsere Versuche an unverbrannten Tieren zeigen, in unserem stark inkompatiblen Spender-Empfänger-System die Transplantatreaktion um 5 Tage zu verzögern.

Überraschend war deshalb der Befund, daß bei den verbrannten Tieren die Gabe von Prednisolon keinen Effekt auf die Transplantatüberlebenszeit hat. Beim Vergleich mit gesunden, unbehandelten Tieren zeigt sich zwar eine Verzögerung der Abstoßung, sie bleibt aber im Mittel noch um einen Tag unter dem Wert, der bei den verbrannten Tieren ohne Behandlung gefunden wird. ALLISON, WEISMAN und JÄRVINEN haben eine Schutzwirkung von Cortisonbehandlung auf die Epidermis nach Verbrennung festgestellt, die vielleicht über eine unmittelbar gewebsschützende Wirkung eine Verzögerung der Abstoßung verhindern könnte (4, 72, 144). Da in unseren Versuchen die Transplantate in das gesunde Hautareal übertragen wurden, kommt eine unspezifische Wirkung dieser Art jedoch nicht in Betracht. Zahlreiche Untersuchungen lassen keinen Zweifel daran, daß schwere Verbrennungen eine Überaktivität der Nebennierenrinde induzieren (42, 69, 133), die bis zur Ausbildung eines "Stress-Pseudodiabetes" führen kann (39). Unter der Voraussetzung, daß durch endogene Sekretion der steroid-sensible Immunapparat schon weitgehend unterdrückt ist, wäre es denkbar, daß exogene Zufuhr, vielleicht in Abhängigkeit von der Dosis, keinen zusätzlichen Einfluß auf die Transplantatüberlebenszeit hat.

Zur Frage der noch weitgehend hypothetischen Wirkungsweise der Corticoide auf die Immunreaktionen vom verzögerten Typ wurden kürzlich von CASEY (22) interessante Untersuchungen vorgelegt.

Er beobachtete, daß Corticoide die Ausbildung einer Überempfindlichkeit vom Spättyp nur dann zu hemmen vermögen, wenn sie gleichzeitig mit dem Antigen gegeben werden. Es wird daher vermutet, daß sie am afferenten Schenkel der Immunantwort eingreifen, möglicherweise, indem sie die adäquate Verarbeitung des Antigens durch Makrophagen verhindern. SCHILDT (127) weist auf die direkte Korrelation zwischen erhöhtem Plasmacorticoid-Spiegel und Hemmung der Phagozytose hin, die gerade beim Verbrennungstrauma untersucht wurde, jedoch ohne einen Beweis für einen echten Zusammenhang geben zu können. Auch die Untersuchungen von RASCHE und ULMER (121) bestätigen eindeutig die Verminderung der Phagozytose von Alveolar- und Entzündungsmakrophagen unter Corticoidmedikation. In diesem Zusammenhang läßt sich vielleicht auch der Befund einordnen, daß die zelluläre Reaktion auf einen Entzündungsreiz nach Verbrennung auffallend herabgesetzt ist; vor allem die Zahl der mononukleären Phagozyten am Ort der Entzündung ist vermindert (91, 103). Nach den von THOMSON (138) publizierten Beobachtungen muß dies als eine spezifische Glukokortikoidwirkung angesehen werden. Die experimentellen Grundlagen sprechen demnach mehr für den erhöhten Plasmacorticoid-Spiegel als Ursache der Phagozytosehemmung als für den antigenen Wettbewerb, wobei offen bleiben muß, ob die Hemmung der Phagozytose zu einer Blockierung der Antigen-Erkennung führt. Eine andere Möglichkeit ergibt sich mit der Auffassung, die oben beschriebenen morphologischen Veränderungen des lymphatischen Systems als Steroid-Involution anzusehen, bedingt durch die massive Ausschüttung von Nebennierenrinden-Hormonen. Die Verminderung von immunkompetenten Zellen könnte demnach auch darauf zurückgeführt werden. Dagegen sprechen Versuchsergebnisse von ESTERBAN und CRADDOCK (38, 28), die darauf schließen lassen, daß Cortison hauptsächlich auf die kurzlebigen B-Lymphozyten zerstörend einwirkt, während der langlebige "circulating-pool" relativ unbeeinflusst bleibt. Die Zerstörung von T-Lymphozyten durch einen erhöhten Plasmacorticoid-Spiegel ist somit zumindest fraglich.

Eine analoge Beobachtung zu der Behandlung mit Prednisolon allein machten wir bei der Auswertung der Ergebnisse der Kombinationsbehandlung von ALS mit Prednisolon nach Verbrühung. Während bei gesunden Tieren die Wirkung von ALS durch Corticoide signifikant verstärkt wird, was sich auch in unseren Versuchen an den Kontrolltieren beobachten ließ, ist dieser Effekt nach Verbrühung nicht mehr nachweisbar. Die Tiere, die unter ALS-Prednisolon-Behandlung standen, stießen das Transplantat im Mittel nur einen Tag später ab als unter ALS-Medikation allein, zwei Tage früher als das gesunde Vergleichskollektiv. Diese Beobachtung gibt einen Hinweis dafür, wie sich die synergistische Wirkung von ALS und Verbrühung noch anders vorstellen ließe, als bereits ausgeführt.

Das Tierexperiment zeigt, daß Maßnahmen, die die Anzahl beider Lymphozytenpopulationen, der T- und B-Zellen, reduzieren, die wirkungsvollste und einzige über das additive Maß hinausgehende Maßnahme zur Immunsuppression darstellen (48, 64). LANCE vermutet, daß die Involution des Thymus bei Applikation von Steroiden zur verstärkten Wirkung von ALS führt (83).

Über Lymphozytolyse und Verarmung des Thymuscortex an Lymphozyten nach Verbrühung wurde kürzlich erstmals berichtet (81). Die Voraussetzungen für eine synergistische Wirkung zwischen ALS und Verbrühung in dem von LANCE diskutierten Sinne wären damit gegeben. Die Unwirksamkeit von exogen zugeführtem Cortison müßte wieder auf die Nichtansprechbarkeit der Erfolgsorgane infolge der Wirkung der endogenen, bereits ausgeschütteten Kortikoide zurückgeführt werden.

Eine andere Vorstellung ergibt sich noch aus einer sehr interessanten Arbeitshypothese von LEGUIT (86). Er folgert aus seinen Versuchen über Lymphozytentransformation in vitro nach Verbrennung, daß nach Verbrennung eine Veränderung des Gleichgewichts der Lymphozytensubpopulationen stattfindet. Auf die Verminderung der Gesamtzahl werden reaktiv B-Lymphozyten ausgeschwemmt, die vorerst die T-Lymphozyten in der Gesamtpopulation ersetzen, ähnlich, wie es DENMAN (32) für die rasche Restituierung des "circulating-pool" nach ALS-Behandlung festge-

stellt hat. Welcher Vorgang primär zur Verminderung der Zellen des "circulating-pool" führt - Einwirkung eines Toxins und/oder erhöhte endogenen Glukokortikoidausschüttung - muß vorerst offen bleiben. Sollte tatsächlich nach Verbrennung die B-Population überwiegen, wäre es erklärlich, warum Kortison so wenig Einfluß auf die Transplantatreaktion hat. Nach zur Zeit gültiger Meinung spielt diese Lymphozyten-Subpopulation bei den zellulären Immunreaktionen eine den T-Lymphozyten untergeordnete Rolle (124). Das Ausmaß der durch die Verbrennung induzierten Immunsuppression hinge demnach von der Verminderung langlebiger T-Lymphozyten ab, die erst in entsprechend langer Zeit wieder eingesetzt werden.

ALDOSTERON-BEHANDLUNG:

TODD hat am Modell der Nierentransplantation erstmals eine immunsuppressive Wirkung des Mineralkortikoids nachgewiesen (139). GIELDANOWSKI et al konnten keinen Effekt auf die Transplantat-Überlebenszeit allogener Hauttransplantate feststellen, was wahrscheinlich auf die ungenügende Dosierung zurückzuführen ist (54). Unsere Versuche zeigten signifikant eine immunsuppressive Wirkung von Aldosteron auf die Transplantatreaktion. Verglichen mit dem gesunden Vergleichskollektiv zeigt sich zwar nach Verbrühung eine signifikante Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit unter Aldosteron-Behandlung. Beim Vergleich mit den verbrühten, unbehandelten Tieren wird jedoch deutlich, daß durch die Anwendung von Aldosteron die Transplantatreaktion nicht weiter hinausgeschoben werden kann. Im Hinblick auf die durch Verbrühung ohnehin schon verzögerte Abstoßung ist seine Anwendung bei Verbrühung als Immunsuppressivum als wirkungslos zu bezeichnen. Es muß daher in Frage gestellt werden, ob die im Vergleich mit gesunden Tieren beobachtete Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit auf Aldosteronwirkung zurückgeht oder aber nur den Verbrennungseffekt darstellt.

Auf welche Weise Aldosteron in das Immungeschehen eingreift, ist zur Zeit noch ungeklärt. TODD (139) berichtet über eine Verminderung der Zellen in den Keimzentren der Lymphknoten und der

Milz. Eine vorübergehende Verminderung der Zellen des weißen Blutbildes beobachtete STASS (11). Es fehlen jedoch systematische Untersuchungen über eine lympholytische Wirkung von Aldosteron. RASCHE konnte in den Untersuchungen an Zellkulturen mesenchymalen Ursprungs keine depressive Wirkung auf Stoffwechsel und Mitose durch das Mineralkortikoid DOCA feststellen (120). Entsprechende Untersuchungen über Aldosteron liegen allerdings nicht vor. Auch eine unspezifisch antiinflammatorische Eigenschaft, wie man sie als mögliche Wirkungsweise bei Kortison diskutiert, kommt bei Aldosteron nicht in Betracht. Am standardisierten Modell des Fremdkörpergranuloms ruft es im Gegenteil eine Verstärkung der Entzündungsreaktion hervor (33).

Ein anderes Bild ergibt sich wiederum bei der Kombination von Aldosteron mit ALS. Die Kontrollversuche an gesunden Tieren ließen deutlich einen additiven Effekt auf die Verzögerung der Transplantatreaktion erkennen. Bei den verbrühten Tieren zeigt sich eine andere Situation. Die Transplantatüberlebenszeit ist unter Aldosteroneinfluß so verkürzt, daß die unter immunsuppressiver Behandlung stehenden Tiere das Transplantat zur gleichen Zeit abstoßen wie die Tiere ohne Behandlung.

Die Interpretation dieses Befundes ist schwierig. Er läßt jedoch auf eine Interferenz von Aldosteron mit dem Verbrennungs- und/oder ALS-Effekt schließen, der eventuell über die antitoxischen Eigenschaften von Aldosteron denkbar wäre. Die antitoxische Wirkung von Aldosteron im experimentellen Endotoxinschock ist eine der am häufigsten untersuchten extrarenalen Eigenschaften des Mineralkortikoids (61, 16). Eine direkte Wirkung auf ein Verbrennungstoxin analog zu den Versuchsergebnissen von HAYASAKI (61) wäre denkbar. Er beobachtete beim experimentellen Endotoxinschock an Katzen, daß Inkubation von Endotoxin mit Aldosteron die Überlebensrate der Tiere von 26 % auf 83 % heraufsetzte.

RASCHE (121) beobachtete, daß Mineralkortikoide die Phagozytose beträchtlich steigern können; dadurch wäre eine indirekte Wirkung über eine Stimulation des RES möglich.

Die Inaktivierung von Toxinen ist bekanntlich eine der wichti-

gen Funktionen des RES und unmittelbar mit dem Funktionszustand korreliert (110). Depression des RES macht erwiesenermaßen den Organismus empfindlicher gegenüber der Wirkung von Toxinen (45, 136), während eine größere Entgiftungskapazität über eine Aktivierung des RES nachgewiesen wurde (62, 89). HOPT (68) konnte bei RES-geblockten, verbrannten Ratten eine signifikante Steigerung der Überlebensrate durch Aldosteron erzielen. Auch in unseren Versuchen war die Mortalität bei Kombination mit Aldosteron deutlich geringer als bei Kombination mit Prednisolon oder ALS allein.

Wie schon erwähnt, hat ALS eine depressive Wirkung auf das RES. Möglicherweise wird durch ALS die Inaktivierung von Verbrennungstoxinen eingeschränkt und dadurch zusätzlich eine Verstärkung der Verbrennungseffekte auf das Immunsystem bedingt. Nach den Versuchen von RASCHE (121) ist eine stimulierende Wirkung von Mineralokortikoiden auf RES-Zellen möglich, die die Ursache sein könnte für eine gegen ALS gerichtete antitoxische Aktivität. Auch die Versuche von KIFFNER (76) an adrenaletomierten Tieren zeigen, daß Aldosteron beim vorgeschädigten Organismus eine deutliche Anti-ALS-Wirkung hat.

Die Frage, warum Aldosteron allein keine Normalisierung der Immunantwort herbeiführt, muß jedoch weiter offen bleiben.

E.2.4. IMMUNPARALYSE

Zuletzt möchte ich noch kurz auf das Thema Immunparalyse eingehen. RAPAPORT gebraucht diesen Begriff als Synonym für immunologische Toleranz, worunter man eine "spezifische Nichtreaktivität aufgrund einer Unterbrechung des immunologischen Reaktionsablaufes auf zellulärer Ebene" versteht (67).

Da in unseren Versuchen bei zwei verbrannten Tieren - unter zusätzlicher immunsuppressiver Behandlung mit ALS bzw. ALS/Aldosteron - eine langdauernde Transplantateinheilung erfolgte (Beobachtungszeit: 6 Monate), verdient diese Möglichkeit Beachtung. In der Literatur wird ein Fall von angeblich dauernder Transplantateinheilung beschrieben (145).

Experimentell ist es möglich, durch Applikation eines Antigens,

entweder in einer Dosis unterhalb der speziellen Immunisationschwelle (low-zone paralysis) oder durch Antigenüberladung (high-zone paralysis) beim Versuchstier eine spezifische Toleranz zu erzeugen. Eine umfassende Übersicht gibt die Arbeit von HOPF (67). Die theoretischen Grundlagen bieten in Zusammenhang mit der nach Verbrennung zu beobachtenden Immundepression einige interessante Aspekte. FREI (51) äußerte als erster den Gedanken, daß die direkte Wechselwirkung des Antigens mit dem immunkompetenten Lymphozyten unter Umgehung der Phagozytose durch Makrophagen zur Toleranz führt. Weitere Untersuchungen berechtigen inzwischen zu der Annahme, daß "tolerogener und immunogener, d.h. durch Makrophagen aufbereiteter Anteil um die Reaktion mit der immunkompetenten Lymphzelle konkurrieren" (67).

MARTIN (98) und MITCHELL (106) kommen zu dem Ergebnis, daß die Leichtigkeit, mit der bei neonatalen Tieren Toleranz erzeugt werden kann, möglicherweise auf die mangelnde Phagozytose des applizierten Antigens zurückgeführt werden kann. Auch bei der Ganzkörperbestrahlung, nach der Toleranz leichter erzeugt werden kann, konnte man eine verminderte Phagozytose nachweisen (79). Es ist daher vielleicht möglich, daß durch Verbrennung in Verbindung mit Immunsuppression bei den zwei Tieren in unseren Versuchen Toleranz gegen die allogenen Hauttransplantate erzeugt wurde.

Da Toleranz ganz spezifisch nur gegen das induzierende Antigen gerichtet ist, böte sich hier in der klinischen Anwendung eine Form der Immunsuppression, die in keiner Weise mit der Infektabwehr interferieren würde. Von diesem Standpunkt aus wäre eine Klärung dieses Problems wünschenswert.

E.3. ENHANCEMENT

Um zu prüfen, ob diese Ergebnisse möglicherweise durch die Wirkung von verbrannten Tieren gebildeter "Enhancing"-Faktoren erklärt werden könnten, führten wir Serumübertragungsversuche durch. Erste Ergebnisse ermutigten weitere Forschung in dieser Richtung. Bei Tieren, die mit Serum von verbrannten Ratten be-

handelt worden waren, fand sich gegenüber Kontrolltieren, die Normalserum von Ratten bekommen hatten, eine signifikante Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit. "Enhancing"-Faktoren vermögen ein fremdes Transplantat vor der Zerstörung durch den Wirtsorganismus zu schützen. Der Begriff und die Methode des "Enhancements" entstammt der Tumorimmunologie. Durch Vorbehandlung des Empfängertieres mit lyophilisierten Gewebs- oder Tumorzellen des potentiellen Spenders (aktive Immunisierung) oder gegen diese Zellen gerichtete homologe Antiseren (passive Immunisierung) tritt in diesen Experimenten nicht eine beschleunigte Abstoßung ein, sondern das Tumowachstum wird dadurch begünstigt (enhanced).

Für alle anderen Transplantate wurde bisher nur eine verlängerte Lebensdauer, keine dauernde Transplantateinheilung erzielt. Für das Enhancement von Hauttransplantaten konnte COHEN (27) nachweisen, daß die Überlebenszeit mit der Anzahl der zugeführten Iso-Antikörper gegen alle transplantierten HL-A Antigene korreliert ist, derart, daß möglichst wenig "freie" Transplantationsantigene eine Immunantwort beim Wirt induzieren können. Für eine umfassende Darstellung der möglichen, zugrundeliegenden Vorgänge möchte ich auf die Arbeiten von KALISS und AMOS (74, 5) verweisen.

Wir vermuteten einen ähnlichen Mechanismus nach Verbrennung deshalb, weil nach Anwendung von Steroiden keine Verzögerung der Transplantatreaktion erfolgte. Möglicherweise wurde durch Steroide, die bekanntlich die Produktion von Antikörpern stark unterdrücken (53), das Entstehen von Enhancing-Faktoren verhindert. Es war nicht auszuschließen, daß durch Verbrühung und dadurch bedingte Veränderung von Auto-Antigenen ein Immunprozess in Gang gesetzt wurde, der einer aktiven Immunisierung im Sinne eines Autoenhancements entsprochen hätte. Das Auftreten von hämagglutinierenden Antikörpern nach Verbrennung (76) passte sehr gut in diese Vorstellung, da zwischen hämagglutinierenden Antikörpern und Enhancing-Faktoren früher enge Beziehungen gesehen wurden (73).

Wir behielten nach positiven ersten Versuchsergebnissen in

einer größer angelegten Versuchsserie 3 Kollektive mit Serum von verbrannten Ratten, von gesunden Ratten und mit verbrannter Haut absorbiertem Serum von verbrannten Ratten. Wir erwarteten eine Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit nur für das erste Kollektiv. Es stellte sich aber heraus, daß kein statistisch zu sichernder Unterschied zwischen den Kollektiven bestand, da in allen die Transplantatüberlebenszeit verlängert war.

Versuche von POKORNA (114) bestätigen die Verzögerung der Abstoßung von Hauttransplantaten durch Behandlung mit isologem Serum. Sie hatten jedoch im Gegensatz zu unserer Applikation nur bei häufigen Injektionen von kleinen Mengen ($12 \times 0,5$ ml) über 4 Wochen Erfolg. Die Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit nach Serumbehandlung muß jedoch angesichts dieser Versuche auf einen unspezifischen Mechanismus (competition of antigens) zurückgeführt werden.

E.4. DIE TRANSPLANTATREAKTION BEI TRANSPLANTATION AM 10. TAG NACH VERBRÜHUNG:

Diese Versuche wurden durchgeführt, um zu untersuchen, ob und in welchem Zeitraum das Immunsystem zu einer normalen Reaktionslage zurückkehrt. RAPAPORT konnte bei einer 30 %igen Verbrennung keinen Zusammenhang zwischen Zeitpunkt der Transplantation und Transplantatüberlebenszeit feststellen, solange die Transplantation innerhalb der ersten 15 Tage nach Verbrennung erfolgte. Da das Ausmaß der durch die Verbrennung induzierten Immunsuppression vom Umfang des Traumas abzuhängen scheint (26), erwarteten wir bei einer Verbrühung von nur 15 % der Körperoberfläche nach 10 Tagen eine Rückkehr zur Normallage. Es ließen sich jedoch bei Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung mit und ohne immunsuppressiver Behandlung die gleichen immunologischen Veränderungen feststellen wie bei Transplantation am 1. Tag nach Verbrühung, allerdings in vermindertem Umfang.

Dabei sahen wir, daß auch bei Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung die Transplantatüberlebenszeit von unbehandelten Tieren noch verlängert ist und ALS-Behandlung immer noch

eine signifikante zusätzliche Verlängerung erzielt.

Die Hypothese, daß durch Verbrennung eine Reduzierung des "circulating-pool" von Lymphozyten erfolgt, wird durch dieses Ergebnis gestützt. Da die Rekrutierung der langlebigen Lymphozyten langsam erfolgt, ist die Immunantwort noch deutlich verzögert. Dagegen befindet sich das RES in einer Phase der Hyperaktivität (129). Die Hemmung der zellulären Immunreaktionen auf eine Blockierung des RES zurückzuführen, erscheint zu diesem Zeitpunkt nicht mehr glaubhaft.

Die Einordnung des Befundes, daß Steroide, sowohl Aldosteron als auch Prednisolon, auch in diesen Versuchen keine zusätzliche Wirkung auf die Transplantatüberlebenszeit haben, bereitet Schwierigkeiten. Die Tiere befanden sich nicht unter Stress. Ein erhöhter Serumkortikoidspiegel ist zu diesem Zeitpunkt unwahrscheinlich. Zum anderen setzen die reparativen Vorgänge am lymphatischen System relativ rasch ein, so daß je nach Schwere der Verbrühung Lymphknoten und Milz zwischen dem 3. und 7. Tag ein morphologisch intaktes Bild bieten (131). Möglicherweise spricht dieses Ergebnis für die Theorie von LEGUIT (86), daß nach Verbrennung ein Überwiegen der B-Zellen innerhalb der Lymphozytensubpopulationen eintritt. Wenn das Ausmaß der endogenen Immunsuppression nach Verbrennung von der Verminderung der T-Zellen abhängt, ist es theoretisch denkbar, daß Cortison nicht zusätzlich wirkt, da eine Verminderung von B-Zellen sich nicht so effektiv auf die Verzögerung der Transplantatreaktion auswirkt. Bei der Kombination von ALS mit Aldosteron fällt auf, daß auch bei Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung Aldosteron die ALS-Wirkung signifikant einschränkt. Ob hier eine spezielle antitoxische Eigenschaft von Aldosteron beim vorgeschädigten Organismus zum Tragen kommt, muß dahingestellt bleiben.

Abschließend ist zu bemerken, daß angesichts der begrenzten Genauigkeit der Methode, die bei der makroskopischen Beurteilung der Abstoßungsreaktion unvermeidbar ist, auch bei signifikanten Unterschieden in der Transplantatüberlebenszeit le-

diglich Tendenzen aufgezeigt werden können. Diese können dahingehend zusammengefaßt werden:

1. ALS schränkt die durch Verbrühung bereits verminderte immunologische Reaktionsfähigkeit für zelluläre Immunreaktionen weiter ein. Dies zeigt sich in einer zusätzlichen Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit.
2. Die Anwendung von Steroiden führt nicht zu einer zusätzlichen Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit.
3. Ein additiver Effekt von ALS und Steroiden auf die Verzögerung der Transplantatreaktion ist nach Verbrühung nicht mehr nachweisbar.
4. Versuche, die Verzögerung der Transplantatreaktion auf Bildung von "Enhancing"-Faktoren zurückzuführen, konnten dies nicht bestätigen.
5. Die Transplantatreaktion nach dem 10. Tag nach Verbrühung läßt in unserem Versuchsmodell grundsätzlich die gleichen, wenn auch abgeschwächten Reaktionsweisen auf immunsuppressive Behandlung erkennen, wie bei Transplantation am 1. Tag nach Verbrühung.

E.5. DIE MORTALITÄT UND DIE INFektionsRESISTENZ ALS PARAMETER FÜR DIE TOXISCHEN NEBENWIRKUNGEN DER IMMUNSUPPRESSION:

Die Mortalität läßt sich in eine Früh- und eine Spätmortalität einteilen. Die Frühmortalität ist sicher schockbedingt. Sie ist entsprechend der kleinen Verbrennungsfläche sehr gering. Die Versuche von HOPT (68), die unter gleichen experimentellen Bedingungen durchgeführt wurden, lassen erkennen, daß Ratten nach Überwindung der Schockphase eine hohe Widerstandskraft gegen die Phase der eigentlichen Verbrennungskrankheit besitzen, die auch von anderen Autoren beobachtet wurde. Trotz Verbrühung von 30 % der Körperoberfläche starb nach dem 3. Tag keines der verbrühten Tiere mehr, so daß zusätzliche Maßnahmen wie künstliche Infektion oder RES-Blockade angewendet werden mußte, um eine Spätmortalität beobachten zu können.

Auch immunsuppressive Behandlung führt zu einer bemerkenswerten Zunahme der Spätmortalität, besonders unter ALS-Behandlung.

Die charakteristischen Symptome: Kachexie, Apathie, Diarrhoe und als Todesursache Bronchopneumonie führten zu der Annahme, daß es sich um ein "wasting"-Syndrom handeln könnte, das von HOLDER (66) und KOUMANS (80) gleichfalls bei immunsuppressiver Behandlung nach Verbrennung beobachtet wurde. Bei der Beschäftigung mit diesem Krankheitsbild fällt auf, daß "wasting-disease" vor allem an Tieren mit verminderter zellulärer Immunität beobachtet wird. Am häufigsten ist das Auftreten nach neonataler Thymektomie beschrieben (102, 10). Als pathogenetischer Faktor wird eine bakterielle Ätiologie diskutiert, da die Überlebensrate keimfreier, nach Geburt thymektomierter Mäuse signifikant höher ist als bei gewöhnlich aufgezogenen Tieren (102, 122) und außerdem durch Antibiotikagabe beeinflusst werden kann (17).

Wie schon betont, bieten thymektomierte Tiere hinsichtlich ihrer verminderten immunologischen Reaktion auf Transplantat-Übertragung und Intrakutantestung auf verzögerte Überempfindlichkeit interessante Parallelen zu verbrannten Tieren. Die Beziehung zwischen Auftreten von verzögerter Überempfindlichkeit und Abwehrlage des Organismus gegen Infektionen wurde erstmals von MACKANESS systematisch untersucht (92, 93, 94). Er machte die Beobachtung, daß zwischen antimikrobieller, zellulärer Immunität und dem Auftreten von verzögerter Überempfindlichkeit eine hochsignifikante Korrelation besteht (92, 93). Antimikrobielle, zelluläre Immunität ist dadurch charakterisiert, daß Makrophagen die Fähigkeit erhalten, phagozytierte, intrazelluläre Mikroorganismen zu verdauen und abzutöten (124). Die zur Zeit gültige Theorie der Immunität gegenüber bestimmten Mikroorganismen - Bakterien, Pilzen und Viren - vor allem solche, die die Fähigkeit zu intrazellulärem Wachstum besitzen, geht dahin, daß die Abwehr zellulär durch Makrophagen erfolgt und auf die Sensibilisierung von immunkompetenten Lymphozyten zurückgeht (94). Dieser Vorgang bewirkt die Aktivierung von Makrophagen, die diese zur intrazellulären Abtötung der phagozytierten Mikroorganismen befähigt. Die Aktivierung erfolgt wahrscheinlich durch Sekretion bestimmter Stoffe, z.B. "migration-inhibitory factor" M.I.F.), oder durch Bildung von sog.

cytophilen Antikörpern (94, 135). Das morphologische Äquivalentbild dieses immunologischen Vorgangs im Organismus ist die Hautreaktion bei Intracutantestung mit dem Bakterienantigen, die durch histio-lymphozytäre und plasmazelluläre Infiltration gekennzeichnet ist (90). Es liegt daher nahe, unter dem Gesichtspunkt der Verknüpfung von zellulär antimikrobieller Immunität und Überempfindlichkeit vom Spättyp, die nach Verbrennung vermindert ist, die erhöhte Infektanfälligkeit des Organismus auf einen Mangel in der zellulären Abwehr zurückzuführen.

Statistiken zeigen, daß sich nach dem Rückgang der Schockmortalität durch adäquate Volumensubstitution die Mortalität der schweren Verbrennung kaum verändert hat. Die Haupttodesursache ist trotz intensiver Antibiotikatherapie nach wie vor die nicht zu beherrschende Sepsis (99, 132). Die Bildung von humoralen Antikörpern ist dabei nicht beeinträchtigt. Es werden sogar außergewöhnlich hohe Agglutinationstiter z.B. gegen Pseudomonas-Antigene gefunden (50).

Versuche von MACKANESS (95) konnten glaubhaft machen, daß die an der Infektabwehr beteiligten Lymphozyten dem "circulating-pool" angehören. Eine Verminderung der Zahl der immunkompetenten Lymphozyten, die eventuell die Ursache für das immunpathologische Geschehen nach Verbrennung im Hinblick auf die Transplantatreaktion ist, könnte somit auch als Ursache für die verminderte Infektionsresistenz in Frage kommen.

Unter diesem Gesichtspunkt ist die Wirkung von ALS auf die Infektoresistenz von speziellem Interesse für die Klinik. Versuche mit künstlichen Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* (56) und *Candida* (58) zeigen eine beachtliche erhöhte Mortalität der ALS-behandelten Tiere. Nicht beeinflusst wird dagegen die Immunität gegenüber pyogenen Kokken, die möglicherweise nur humoral erfolgt (108). Die Pseudomonas- und die Pilzsepsis steht als Todesursache nach Verbrennung an der Spitze (49, 132) und läßt somit nicht nur gewisse Schlüsse auf eine verminderte zelluläre Abwehr zu, sondern auch auf die deletären Folgen, die eine immunsuppressive Behandlung mit ALS nach Verbrennung haben könnte.

Die Immunsuppression mit Prednisolon oder Aldosteron allein ergab in unseren Versuchen keinen Unterschied zu den unbehandelten, verbrühten Kontrolltieren. Erst bei Kombination mit ALS steigt die Mortalität sprunghaft an. Es treten dabei jedoch diskrete Unterschiede zu Tage. Danach scheint die Kombinationsbehandlung mit Aldosteron weniger toxisch zu sein. Die Ergebnisse sind jedoch nicht signifikant. Es wäre aber denkbar, daß Aldosteron über eine akut antitoxische Wirkung einen günstigen Einfluß auf die Spätmortalität nehmen kann. Die höchste Mortalität hat die Kombination von ALS mit Prednisolon, was sich aufgrund der zusätzlichen Resistenzminderung durch Glukokortikoide unschwer verstehen läßt.

Bei Transplantation am 10. Tag nach Verbrühung ist die Mortalität in den nicht mit ALS behandelten Gruppen gleich Null. Interessanterweise beobachten wir erst bei Anwendung von ALS wieder das Auftreten der Spätmortalität. Die Verstärkung der sonst latent bleibenden Resistenzminderung durch ALS, nicht durch Kortikoide, könnte auch hier als Hinweis auf eine additive Wirkung von ALS und Verbrühung gewertet werden.

Zusammengefaßt läßt sich sagen:

1. Die Spätmortalität ist infektionsbedingt.
2. ALS-Behandlung führt zu einer deutlichen Zunahme der infektionsbedingten Spätmortalität.
3. Kombination von ALS mit Prednisolon erhöht die Mortalität, während sie durch Kombination mit Aldosteron gesenkt wird.
4. Die Anwendung von Aldosteron und Prednisolon allein führt im Vergleich mit den unbehandelten, verbrühten Tieren nicht zu Veränderungen der Spätmortalität.

E.6. DIE VERBRENNUNGSKRANKHEIT - EIN AUTOIMMUNPROZESS?

In dem Bemühen, das seit der Beherrschung der Schock-Phase im Vordergrund stehende Problem der Verbrennungskrankheit zu lösen, tauchte immer wieder der Gedanke an einen autoimmunologischen Prozess auf.

Dieser Gedanke hat seine experimentelle Berechtigung, da es

gelingt, durch Gewebszerstörung eine Antikörperbildung gegen dieses Gewebe zu induzieren. Das Freiwerden von intrazellulären, dem Erkennungssystem des Organismus normalerweise nicht zugänglichen Antigenen, oder Veränderung von Auto-Antigenen kann zur Bildung von gewebespezifischen Antikörpern führen (142, 141, 104). Dies Geschehen muß jedoch nicht zwangsläufig zu einer Autoimmunerkrankung führen, d.h. gewebszerstörend wirken (141, 104). Nur unter bestimmten Bedingungen läßt sich ein autoallergischer Prozeß in Gang setzen. So konnte RAPAPORT durch Hitzedenaturierung eines Hodens beim Meerschweinchen eine allergische Aspermatogenese des anderen Hodens induzieren (117).

Der Nachweis von zirkulierenden Auto-Antikörpern nach Verbrennung wurde bereits gegen eine ganze Reihe von Antigenen geführt. Diese umfassen Antikörper gegen Leukozyten (115), Erythrozyten (101, 100), antinukleäre Faktoren (116) und Antikörper gegen Haut (116, 86).

Unter den Versuchsanordnungen zur Darstellung von präzipitierenden Antikörpern bieten die Arbeiten von BROWN (20) und KANO (75) interessante Parallelen zu unseren Versuchen. Technik und Zeitpunkt der Entnahme der verbrannten Haut sind vergleichbar mit der von uns angewandten Methode.

Aus ihren Versuchen geht hervor, daß nur vollständige Absorption der Seren mit homologer gesunder Haut, mit den in dem Extrakt nachgewiesenen Bakterien und, wegen der starken Antigenizität von Plasma-Proteinen, auch mit homologem Plasma verwertbare Resultate liefert.

Die Absorption der Seren wird durchgeführt, um verbrennungsunspezifische Antikörperreaktionen zu eliminieren, beispielsweise "normale" Antikörper gegen Haut (siehe Schemazeichnung B.4.3.).

Wie in unseren Versuchen gelang es beiden Autoren, mit heterologem Antiserum gegen verbrannte Haut Präzipitationelinien darzustellen. Absorption des Antiserums mit homologem Plasma führte in der Versuchsreihe von BROWN (20) zum vollständigen Verschwinden der Linien. Es persistierte eine Bande, die nach

Absorption mit dem in dem Hautextrakt nachgewiesenen Erreger, *Proteus mirabilis*, nicht mehr nachgewiesen werden konnte. Die Versuche von KANO (75) bestätigen dieses Ergebnis. Er berichtet, daß die Absorption des Antiserums mit homologem Plasma, nicht mit Serum, zum Verschwinden der einzigen, nach Absorption mit gesunder Haut noch nachweisbaren Präzipitationslinie führte. HOLDER (65) führte die gleiche Versuchsanordnung durch, verwandte aber nur bis zu 15 Minuten nach Verbrennung entnommene Haut als Antigen.

Er absorbierte das Antiserum nur mit homologem Serum und erhielt mehrere gleichartige Präzipitationslinien gegen verbrannte und gesunde Haut.

In unseren Versuchen konnten durch Absorption mit gesunder Haut und dem weitgehenden Ausschluß von Bakterienantigenen einige unspezifische Reaktionen ausgeschlossen werden. Unter dem Aspekt der Versuchsergebnisse von BROWN und KANO ist es jedoch nicht erlaubt, daraus Rückschlüsse auf autoimmunologische Manifestationen zu ziehen. Da wir keine Absorption mit Plasma durchgeführt haben, kann es sich bei der persistierenden Linie ebenso gut um verbrennungsunspezifische Antikörper gegen Plasmabestandteile der verbrannten Haut handeln, wobei es sich demnach um Antikörper gegen Fibrin handeln könnte.

ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUßFOLGERUNGEN

In den vorliegenden Untersuchungen wurde die Wirkung der Immunsuppressiva Antilymphozytenserum, Aldosteron und Prednison auf die Transplantatreaktion nach experimenteller Verbrühung an der Ratte untersucht. Dabei ließ sich in Übereinstimmung mit der Literatur feststellen, daß die Transplantatreaktion durch Verbrühung allein bereits verzögert wird. Behandlung mit Antilymphozytenserum schränkt die durch Verbrühung bereits verminderte immunologische Reaktionsfähigkeit für zelluläre Immunreaktionen weiter ein. Im Vergleich mit dem gesunden Kontrollkollektiv unter ALS-Behandlung zeigte sich bei den verbrühten Tieren eine zusätzliche Verlängerung

der Transplantatüberlebenszeiten. Dagegen führte die Anwendung von Steroiden nicht zu einer zusätzlichen Verzögerung der Transplantatabstoßung. Bei Kombination von ALS mit Steroiden läßt sich bei verbrühten Tieren kein additiver Effekt auf die Überlebenszeit der Transplantate beobachten wie bei gesunden Tieren. Bei gleichzeitiger Gabe von ALS und Aldosteron ist die Überlebenszeit der Transplantate sogar verkürzt.

Der Zeitpunkt der Transplantation, ob 1. oder 10. Tag nach Verbrühung, hat keinen wesentlichen Einfluß auf die Transplantatüberlebenszeiten. Es ließen sich bei Transplantation am 10. Tag grundsätzlich die gleichen, wenn auch abgeschwächten Reaktionsweisen auf immunsuppressive Behandlung erkennen wie bei Transplantation am 1. Tag nach Verbrühung.

Dagegen hat der Zeitpunkt der Transplantation einen großen Einfluß auf die Mortalität. Sie war in allen Kollektiven bei späterer Transplantation bedeutend geringer als bei Transplantation am 1. Tag nach Verbrühung. Bei Anwendung von Antilymphozytenserum steigt die Mortalität auf das Doppelte des unbehandelten, verbrühten Kollektivs an. Die Mortalität ist in unseren Versuchen im wesentlichen infektionsbedingt.

Versuche, die Verlängerung der Transplantatüberlebenszeiten auf die Bildung von Enhancing-Faktoren zurückzuführen, ließen sich nicht bestätigen. Auch der Nachweis der Entstehung von Autoantikörpern ließ sich nicht sicher führen.

Die möglichen Ursachen der geschilderten Veränderungen der Transplantatüberlebenszeiten nach Verbrühung und immunsuppressiver Behandlung mit Antilymphozytenserum, Aldosteron und Prednisolon wurden in Zusammenhang mit den drei Arbeitshypothesen: Antigener Wettbewerb - Erhöhte Sekretion von Kortikosteroiden - Immunparalyse diskutiert.

Als wichtigstes Ergebnis dieser Arbeit ist hervorzuheben, daß Antilymphozytenserum nach Verbrühung eine bemerkenswerte Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit bewirkt. Die bereits verminderte Reaktionsfähigkeit für zelluläre Immunreaktionen

hinsichtlich der Infektionsresistenz wird jedoch in solchem Ausmaß weiter herabgesetzt, daß sich seine klinische Anwendung nur empfiehlt, wenn es möglich ist, den Verbrannten unter den strengsten Bedingungen der Asepsis zu pflegen.

9. ARTURSON, G. Infliction and healing of a large standard burn in mice.
Act.path.microbiol.scand. 61 (1964) 353
10. AZAR, H.A. Bacterial infection and wasting in neonatally thymectomized rats.
Proc.Soc.exp.Biol. 116 (1964) 817
11. BAETHMANN, A.;
 W. LAND;
 K.R. KOCZOREK;
 P. STASS;
 W. BRENDDEL Immunosuppressive properties of corticosteroids.
Europ.Surg.Res. 3 (1971) 40
12. BAILEY, B.N.;
 S.R. LEWIS;
 T.G. BLOCKER Standardisation of experimental burns in the laboratory rat.
Texas Rep.Biol.Med. 20 (1962) 20
13. BAKER, R.D. Internal lesions in burns with special reference to the liver and splenic nodules.
Amer.J.Path. 21 (1945) 717
14. BARDEEN, C.R. A review of the pathology of superficial burns with a contribution to our knowledge of the pathological changes in the organs in cases of rapidly fatal burns.
John Hopk.Hosp.Rep. 7 (1898) 137
15. BATCHELOR, J.R.;
 M. HACKETT HL-A matching in the treatment of burned patients with skin allografts.
Lancet (1970) 581
16. BEIN, H.J.;
 R. JAUQUES The antitoxic effects of Aldosterone.
Experientia 16 (1960) 24

17. VAN BEKKUM, D.W.;
L.M. VAN PUTTEN;
M.J. DE VRIES
Anti-host reactivity and tolerance of the graft in relation to secondary disease in radiation chimeras.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 99 (1962) 550

18. BENACCERAF, B.;
B.N. HALPERN;
G. BROZZI;
S.A. BENNOS
Quantitative study of the granulopoietic activity of the RES.
III. The effect of cortison and nitrogen mustard on the regenerative capacity of the RES after saturation with carbon.
B.J.exp.Path. 35 (1954) 97

19. BILLINGHAM, R.E.;
P.L. KROHN;
P.B. MEDAWAR
Effect of cortison on survival of skin homografts in rabbits.
Brit.Med.J. 2 (1951) 1157

20. BROWN, H.C.;
F.M. WOOLHOUSE;
H.B. WILLIAMS
Autoallergy in burns: An attempt to demonstrate burn-specific antigen in experimenteal thermal trauma.
Plast.Reconstr.Surg. 46 (1970) 588

21. BURRI, C.;
M. ALLGÖWER
Die toxische Wirkung steriler, verbrannter Haut bei Mäusen verschiedener Stämme.
Schweiz.Med.Wschr. 94 (1964) 560

22. CASEY, W.J.;
C.E. MCCALL
Suppression of the cellular interactions of delayed hypersensitivity by corticosteroids.
Immunology 21 (1971) 225

23. CASSON, P.;
W.C. SOLOWEY;
J.M. CONVERSE;
F.T. RAPAPORT
Delayed hypersensitivity status of burned patients.
Surg.Forum 17 (1966) 268

24. CAVALLI-SFORZA, L.
Biometrie, Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik.
Stuttgart: Fischer 1969, S. 95

25. CEPPELINI, R.;
P.L. MATTIUZ;
E.S. CURTONI;
G. LEIGHER;
M. VISETTI;
A. COLOMBI
Survival of test skin homografts in man: Effect of genetic relationship and of blood groups in compatibility.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 129 (1966) 421
26. CHAMBLER, K.;
J.R. BATCHELOR
Influence of defined incompatibilities and area of burn on skin-homograft survival in burned subjects.
Lancet I (1969) 16
27. COHEN, J.;
J. BRAUTBAR;
D. NELKEN
Passive immunological enhancement of skin allografts in rats.
Transplantation 11 (1971) 135
28. CRADDOCK, C.B.;
A. WINKELSTEIN;
Y. MATSUYUKI;
J.S. LAWRENCE
The cellular response to foreign red blood cells and the participation of short-lived lymphocytes.
J.exp.Med. 125 (1967) 1149
29. DANIELS, J.C.;
E.K. COBB;
J.B. LYNCH;
R. LEWISS;
D.L. LARSSON;
S.E. RITZMAN
Altered nucleic acid synthesis in lymphocytes from patients with thermal burns.
Surg.Gynec.Obstetr. 130 (1970) 783
30. DANIELS, J.C.;
H. SAKAI;
E.K. COBB;
S.R. LEWIS;
D.L. LARSSON;
S.E. RITZMAN
Evaluation of lymphocyte reactivity. Studies in patients with thermal burns.
J.Trauma 11 (1971) 595
31. DAVID, J.R.
Macrophage migration - Symp.: In vitro correlates of delayed hypersensitivity.
Fed.Proc. 27 (1968) 6
32. DENMAN, A.M.;
E.J. DENMAN;
P.J. EMBLING
Changes in the life-span of circulating small lymphocytes in mice after treatment with antilymphocyte globulin.
Lancet I (1968) 321

33. DESAULLES, P.;
W. SCHULER;
R. MEIER
Vergleich der Wirkungen des Aldosterons auf das Fremdkörpergranulom der Ratte mit demjenigen von Cortexon, Corticosteron, Cortison und Hydrocortison.
Experientia 11 (1955) 68
34. DIXON, F.J.;
P.H. MAURER;
W.D. WEIGLER
Immunologic activity of pneumococcal polysaccharide fixed in the tissues of the mouse.
J.Immunol. 74 (1955) 188
35. DRESSER, D.W.
Specific inhibition of antibody production. I. Proteinoverloading paralysis.
Immunology 5 (1962) 161
36. DRESSER, D.W.;
N.A. MITCHISON
The mechanism of immunological paralysis.
Adv.Immunol. 8 (1968) 129
37. DUMONDE, D.C.
The role of the macrophage in the delayed hypersensitivity.
Brit.Med.Bull. 23 (1967) 9
38. ESTEBAN, J.N.
The differential effect of hydrocortison on the shortlived small lymphocytes.
Anat.Rec. 162 (1968) 349
39. EVANS, E.J.;
W.J.H. BUTTERFIELD
The stress response in the severely burned.
Ann.Surg. 134 (1951) 588
40. EVERETT, N.B.;
R.W. CAFFREY;
W.O. RIEKE
Recirculation of lymphocytes.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 113 (1964) 887
41. EVERETT, N.B.;
R.M. SCHWARZ;
R. TYLER;
W.D. PERKINS
Observations relative to the mechanism of action of the antilymphocyte serum.
Fed.Proc. 29 (1970) 212

51. FREI, P.C.;
B. BENECERAFF;
G.J. THORBECKE
Phagocytosis of an antigen, a
crucial step in the induction of
the primary response.
Proc.nat.Acad.Sci.Wash. 53 (1965)
20
52. FREUND, J.
On the role of the RES in the tu-
berculin hypersensitivity.
J.Immunol. 11 (1926) 383
53. GERMUTH, F.G.;
B. OTTINGER
Effect of 17-hydroxy-11-dehydro-
corticosteron (Compound E) and of
ACTH on Arthus reaction and anti-
body formation in the rabbit.
Proc.Soc.Exp.Biol. 74 (1950) 815
54. GIELDANOWSKI, J.;
A. ZAK
Studies on the action of mineralo-
tropic drugs on the transplatation
reaction.
Arch.Immunol.Ther.Exp. 16 (1968)
910
55. GOTJAMANDS, T.
The effect of skin allograft size
on survival time following trans-
plantation between mice differing
at H2-locus.
Aust.J.exp.Biol.med.Sci. 48 (1970)
1
56. GROGAN, J.B.
Effect of antilymphocyte serum on
mortality of Pseudomonas aerugino-
sa infected rats.
Arch.Surg. 99 (1968) 382
57. GROGAN, J.B.
RES function after single and mul-
tiple injections of ALS.
J.Reticuloendothel.Soc. 8 (1970)
561
58. GRUBEK, H.;
D. SZYMANSKA;
E. TREKNER;
D. WEYMAN-RZUCIDLO;
M. OKON
Effect of anti-lymphocytic serum on
experimental infection with Candida
albicans in Guinea pigs.
Act.microbiol.Polonica 2 (1970) 21

59. HANBACK, L.D.;
M.S. RITTENBURY
Response of the RES in thermal injury.
Surg.Forum 16 (1965) 47
60. HARDER, F.H.
Zur Charakterisierung der Toxine aus verbrannter Mäusehaut.
Z.ges.exp.Med. 145 (1968) 209
61. HAYASAKI, H.;
J.M. HOWARD
Mechanism of action of D-Aldosterone in endotoxin shock.
Surgery 54 (1963) 761
62. HERSHEY, S.G.;
M. ALI
Influence of colloidal aggregate albumin pretreatment on phagocytosis and survival after experimental shock.
Fed.Proc. 25, Abstr. 593 (1966)
2288
63. HESS, M.W.;
R.W. COTTIER;
W.D. RIEKE
Primary and secondary immune response in thymectomized mice.
J.Immunol. 91 (1963) 425
64. HOEHNS, R.J.;
R.L. SIMMONS
Immunosuppressive drugs combined with heterologous ALS for allograft prolongation.
Transplantation 5 (1967) 1409
65. HOLDER, J.A.;
M. JOGAN
Antigenic components of normal and burned mouse skin.
Experientia 26 (1970) 1363
66. HOLDER, T.H.;
J.R. BATCHELOR
Antilymphocytic serum in burned mice.
In: MATTER, P.; I.L. BARLAY;
Z. KONICKOVA
Research in Burns.
Bern, Stuttgart, Wien: Huber
1971, p. 357
67. HOPF, U.
Immunologische Toleranz.
Klin.Wschr. 49 (1971) 177

68. HOPT, U. Pathophysiologische und therapeutische Bedeutung von Nebennierenrindensteroiden und Antagonisten bei schweren Verbrühungen.
Dissertation (in Vorbereitung)
69. HUME, D.M.;
D.H. NELSON;
D.W. MILLER Blood and urinary 17-hydroxycorticosteroids in patients with severe burns.
Ann.Surg. 143 (1956) 316
70. HUMPHREY, J.H. Cell-mediated immunity - general perspectives.
Brit.med.Bull. 23 (1967) 93
71. JAMES, G.W.;
O.J. PURNELL;
E.J. EVANS The anemia of thermal injury. II. Studies of liver function.
J.Clin.Invest. 30 (1951) 191
72. JÄRVINEN, K.A.J. The effect of cortisone on the reaction of skin to UV.
Brit.med.J. 2 (1951) 1377
73. KALISS, N. Immunological enhancement of tumor homografts in mice.
Cancer Res. 18 (1958) 992
74. KALISS, N. Dynamics of enhancement.
Transplant.Proc. 2 (1970) 59
75. KAND, K.;
F. MILGROM;
F.T. RAPAPORT Immunological studies in thermal injury: Antigenic properties of burned Guinea pig skin.
Proc.Soc.Exp.Biol. 128 (1968) 1165
76. KAND, K.;
F. MILGROM;
E. WITEBSKY;
F.T. RAPAPORT Hemagglutinating factor in the lymph of burned rats.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 123 (1966) 930

77. KAY, D.G. Prolonged survival of a skin homograft in a patient with very extensive burns.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 64 (1957) 767
78. KIFFNER, E. Wechselwirkung zwischen Antilymphozytenserum und der Nebennierenrinde.
München: Inaug.Diss. 1972
79. KÖLSCH, E.;
N.A. MITCHISON The subcellular distribution of antigen in macrophages.
J.exp.Med. 128 (1968) 1059
80. KOUMANS, R.K.J.;
J.F. BURKE Skin allografts and immunosuppression in the treatment of massive thermal burns.
Surgery 66 (1969) 89
81. KURIKUTA, J.;
G. SIMU Thymus behaviour during shock due to burns in animals with stimulated RES.
Rev.Roum.Endocrinol. 8 (1971) 69
82. LANCE, E.M. The effect of chronic ALS administration in mice.
In: DAUSSET, J.; J. HAMBURGER;
G. MATHE
Advances in transplantation 8.
Copenhagen: Munksgaard 1968,
p. 107
83. LANCE, E.M.;
P.B. MEDAWAR;
S. NEHLSSEN;
S. COOPER;
A. GUM Synergistic effect of ALS and Hydrocortison on lymphoid populations.
Sympos.Series on Immunobiology.
Standardisation 16 (1970)
84. LAND, W.;
R. SEBALD;
G. GRABS;
W. BRENDDEL Prolongation of rabbit xenografts with antimacrophage serum in rats.
Europ.Surg.Res. 3 (1971) 28

85. LEE, M.O. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results.
Amer.J.Physiol. 89 (1929) 24
86. LEGUIT, P. Immunological studies in burn patients.
Academisch Proefschrift, Universiteit Amsterdam 1972, p. 15
87. LEHMANN, A.;
 S. TAMMAN Transplantation und Vitalspeicherung.
Klin.Wschr. 4 (1925) 2342
88. LEMPERLE, G. Depression and stimulation of host defense mechanism after severe burn.
Plast.Reconstr.Surg. 45 (1970) 435
89. LEMPERLE, G. Stimulation of the RES in burned rats infected with Pseudomonas aeruginosa.
J.infect.Dis. 117 (1967) 1
90. LETTERER, E. Morphologische Äquivalentbilder immunologischer Vorgänge im Organismus.
Sitzungsberichte der Heidelberger Akademie der Wissenschaften.
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1971
91. LIEBERG, C.F. Antibacterial resistance in burns.
Act.Chir.Scand. 121 (1961) 351
92. MACKANESS, G.B. Cellular resistance to infection.
J.exp.Biol.Med. 116 (1962) 381
93. MACKANESS, G.B. The relationship of delayed hypersensitivity to acquired cellular resistance.
Brit.med.Bull. 23 (1967) 52

94. MACKANESS, G.B. The influence of immunological committed lymphoid cells on macrophage activity in vivo.
J.exp.Med. 129 (1969) 973
95. MACKANESS, G.B.;
 W.C. HILL The effect of anti-lymphocyte globulin on cell-mediated resistance to infection.
J.exp.Med. 129 (1969) 993
96. MARKGRAF, W.;
 W. GREUER;
 T. AHLBORN;
 R. HÄNEL Die Einwirkung einer standardisierten Verbrühung an der Ratte in den ersten Minuten und Stunden auf Bluteiweiß und Gerinnungsfaktoren.
Langenbecks Arch.Klin.Chir. 326 (1970) 106
97. MARSHALL, V.R.;
 P.R. KNIGHT The effect of ALS on the RES of mice.
J.Immunol. 102 (1969) 1498
98. MARTIN, W.J. The cellular basis of immunological tolerance in newborn animals.
Austr.J.exp.Bio. 44 (1966) 605
99. McCARTHY, M.D. A standardized back burn procedure for the white rat suitable for the study of the effects of therapeutic and toxic agents on long-term survival.
J.Lab.clin.Med. 30 (1945) 1027
100. McCARTHY, M.D.;
 McCARTHY, M.D. Relationship of burned area in rats to incidence of the antiglobulin reaction (Coombs test).
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 117 (1964) 693
101. McCARTHY, M.D.;
 McCARTHY, M.D. Coombs antiglobulin reaction in severely burned rats.
Ann.Surg. 157 (1963) 446

102. McINTIRE, K.R.;
S. SELL
Pathogenesis of the postneonatal
thymectomy wasting syndrome.
Nature 204 (1964) 151
103. McRIPLEY, J.R.;
D.W. GARRISON
Effect of burns in rats on defense
mechanism against *Pseudomonas*
aeruginosa.
J.inf.Dis. 115 (1965) 159
104. MILGROM, F.
Tissue specific antigens and iso-
antigens.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 129 (1966) 767
105. MILLER, J.F.A.P.;
G.F. MITCHELL
The thymus and the precursors of
antigen reactive cells.
Nature 216 (1967) 659
106. MITCHELL, J.;
G.J.V. NOSSAL
Mechanism of induction of immuno-
logical tolerance.
Austr.J.exp.Biol.med.Sci. 44 (1966)
211
107. MITCHISON, N.A.
Mechanism of action of antilympho-
cyte serum.
Fed.Proc. 19 (1970) 222
108. MORRIS, P.J.;
J.F. BURKE
Antilymphocyte serum and staphy-
lococcal infection.
Nature 214 (1967) 1138
109. OUCHTERLONY, O.
Diffusion-in-gel methods for immu-
nological analysis.
Progr.Allergy 5 (1962) 155
110. PALMERIO, C.;
J. FINE
The nature of resistance to shock.
Arch.Surg. 98 (1969) 679

111. PAVKOVA, L.;
S. HAJEK
Attempt to isolate and identify antigen from thermally damaged skin.
In: WALLACE, A.
Research in burns.
Edinburgh: 1965, p. 380
112. PFANZAGL, J.
Allgemeine Methodenlehre der Statistik.
In: II. Sammlung Götschen, 8d.
747 a
Berlin: de Gruyter 1968, S. 32
113. PISANO, J.C.;
J.T. PATTERSON;
N.R. DILUZIO
Depression of phagocytic activity of the RES by ALS.
Proc.Soc.Exp.Biol. 132 (1969) 517
114. POKORNA, Z.;
M. VOJTISKOVA
Nonspecific inhibition of various types of immune response by means of normal serum.
Fol.Biol.Prague 12 (1969) 88
115. PRICE, W.R.;
W. McDONALD;
D. CHILDERS
Presence of leucocytic antibodies in major thermal burns.
Amer.J.Surg. 118 (1969) 871
116. QUISMORIO, F.P.;
S.L. BLAND;
G.J. FRION
Thermal burns: model for study of autoimmunity in man (Abstract).
Fed.Proc. 29 (1970) 373
117. RAPAPORT, F.T.;
A. SAMPATH;
K. KANO;
R.T. McCENSKY;
F. MILGROM
Immunological effects of thermal injury. I. Inhibition of spermatogenesis in guinea pigs.
J.exp.Med. 130 (1969) 1411
118. RAPAPORT, F.T.
Immunological sequelae of thermal injury.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 150 (1969) 1004

119. RAPAPORT, F.T.;
J.M. CONVERSE;
L. HORN;
D.L. BALLANTYNE;
J.H. MULHOLLAND
Altered reactivity to skin homo-
grafts in severe thermal injury.

Ann.Surg. 159 (1964) 390
120. RASCHE, B.;
W.T. ULMER
Wirkung der Glukokortikoide auf
Zellen mesenchymalen und epithe-
lialen Ursprungs.

Z.ges.exp.Med. 152 (1970) 42
121. RASCHE, B.;
G. MAY
Die Phagozytoseaktivität von per-
manenten Fibroblasten, Alveolarma-
krophagen und menschlichen Ent-
zündungsmakrophagen unter der
Wirkung von Glukokortikoiden.

Z.ges.exp.Med. 144 (1967) 335
122. REED, N.D.;
J.W. JUTILA
Wasting disease induced with cor-
tisol acetate. Studies in germ-
-free mice.

Science 150 (1965) 356
123. RHODES, J.M.;
I. LIND
Antigen uptake in vivo by peri-
toneal makrophages from mice ex-
hibiting antigenic competition.

Immunology 20 (1971) 839
124. ROITT, J.M.;
M.F. GREAVES;
C. TORRIGIANI;
J. BROSTOFF
The cellular basis of immunologi-
cal responses.

Lancet II (1969) 367
125. SABET, T.Y.;
H. FRIEDMANN
The effects of RES blockade in
antibody formation.

Immunology 19 (1970) 843
126. SACHS, A.
Immunosuppression in severe burns
In: MÜLLER, F.E.
Verbrennungskrankheit.
Int. Symposium für Verbrennung
Stuttgart, New York: Schat-
tauer 1968, p. 63

127. SCHILDT, B.E. Funktion des RES nach verschiedenen Traumen.
In: ZIMMERMANN, W.E.; I. STAIB
Schock - Stoffwechselveränderungen und Therapie.
Stuttgart, New York: Schattauer 1971
128. SCHILDT, B.E.; Standardized burns in mice.
A. NILSSON Europ.Surg.Res. 2 (1970) 23
129. SCHILDT, F.E. Function of the RES after thermal and mechanical trauma in mice.
Act.Chir.Scand. 136 (1970) 359
130. SCHOENENBERGER, G.H.; Isolation, biological and antigenic properties of a specific toxin formed in thermally altered mouse skin.
M. ALLGÖWER;
L.B. CUENI;
U. UPPENBERGER;
K.E. STÄDTLER Europ.J.clin.Invest. 2 (1972) 154
131. SEVITT, S. Changes in white cells, platelets and clotting factors.
In: Burns - Pathology and therapeutic applications.
London: Butterworths 1957, p. 220
132. SEVITT, S. Pathology of burns.
In: ARTZ, C.P.; J.A. MONCRIEF
The treatment of burns.
Philadelphia, London, Toronto: Saunders 1969, p. 27
133. SEVITT, S. Adrenocortical function in burned patients.
Brit.med.J. 1 (1951) 541
134. SHEAGREN, J.N.; Mechanism of RES-blockade produced by ALS.
R.F. BARTH;
J.B. EDELIN;
R.A. MALMGREN J.Immunol. 105 (1970) 634

135. SILVERMAN, M.S.

The macrophage in cellular and humoral immunity.

J.Reticuloendothel.Soc. 8 (1970)
105

136. STONER, H.B.

Studies on the mechanism of shock. The activity of the RES after limb ischemia in the rat.

Brit.J.exp.Path. 42 (1961) 513

137. TERINO, E.O.;
J. MILLER;
W.E.L. GLENN

Tolerance induction and skin graft prolongation by competing antigens.

Surgery 56 (1964) 256

138. THOMPSON, J.;
R.v. FURTH

The effect of glucocorticoids on the kinetics of mononuclear phagocytes.

J.exp.Med. 131 (1970) 429

139. TODD, R.S.;
J.B. LAINE;
L.M. SINGH;
R.E. VEGA;
C. HEIDER;
J.M. HOWARD

Effects of aldosterone on prolongation of renal homotransplants in dogs.

Surg., Gynec.Obstetr. 119 (1964)
758

140. WAKSMAN, B.H.;
K. ISAKOVIC;
C. WENNERSTEIN

Immunologic reactivity in neonatally thymectomized rats receiving competent lymphoid cells during immunisation.

In: The RES - Morphology, immunology and regulation.
Proc.IVth Intern.Symp. on RES
Otsu-Kyoto, Japan 1964, p. 241

141. WEIR, D.M.

Immunological reaction after tissue injury.

In: WALLACE, A.B.
Research in burns.
London, Edinburgh: Livingstone 1965, p. 389

142. WEIR, D.M. Immunologic reactions after tissue damage.
Lancet I.(1964) 749
143. WEISKOTTEN, G.H. Histopathology of superficial burns.
J.Amer.Med.Ass. 72 (1919) 259
144. WEISMANN, G.; The effect of hydrocortisone on
H.B. FELL the response of fetal rat skin in culture to UV-radiation.
J.exp.Med. 116 (1962) 365
145. WOLF, H. Beitrag zur homoioplastischen Epidermis-Transplantation.
Med.Klin. 16 (1946) 350

Herrn Professor Dr.Dr. W. Brendel danke ich für die Überlassung des Themas und die großzügige Unterstützung der Arbeit.

Herrn Dr. med. A. Baethmann danke ich für die Anregungen, Förderung der Arbeit und Geduld sehr herzlich.

Für die Unterstützung in statistischen Fragen sei besonders Frl. Dr. med. G. Rindfleisch Dank gesagt.

Frl. G. Brons, Frl. A. von Meding und Frl. A. Gruber danke ich für die Hilfe beim Fertigstellen der Abbildungen.

LEBENS LAUF

Am 12.8.1945 wurde ich als erstes Kind des Hals-Nasen-Ohren-Arztes Dr. med. Werner-Günther Struckmeyer und seiner Frau, Dr. med. Christa-Helga Struckmeyer, geb. Fromme, in Göttingen geboren.

Nach Besuch der Volksschule trat ich Ostern 1956 in das Gymnasium für Mädchen in Göttingen ein. Im Jahr 1957 siedelten wir nach Holzminden über, wo ich im Februar 1965 das Abitur am Gymnasium für Mädchen ablegte.

Zum Wintersemester 1966 begann ich das Medizinstudium an der Universität Gießen. Nach Fortsetzung des Studiums in Göttingen, Kiel und Innsbruck studierte ich ab Sommer 1969 in München. Das Staatsexamen legte ich im Dezember 1971 ab.

Meine Medizinalassistentenzeit leistete ich 1972 in den Fächern Chirurgie und Innere Medizin an den Kliniken der Universität München ab, in Gynäkologie und Geburtshilfe am Kreis-krankenhaus Stadtoldendorf (Niedersachsen). 1973 war ich als Assistentin an der Anaesthesieabteilung der Chirurgischen Universitätsklinik München tätig. 1974 bis August 1975 arbeitete ich als Resident der Anaesthesie-Abteilung am Michael-Reese Hospital in Chicago/USA. Seit September 1975 bin ich wieder Assistentin der Anaesthesieabteilung der Chirurgischen Universitätsklinik München.

